



Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi
Harran Journal of Agricultural and Food Science



Yıl / Year: 2024 Cilt / Volume: 28 Sayı / Number: 1

Önceki Adı / Formerly
Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi
Journal of the Faculty of Agriculture



Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi

Harran Journal of Agricultural and Food Science

Yayınlayan

(Publisher)

Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi

Sahibi

(Owner)

Prof. Dr. Ahmet YILMAZ

Dekan (Dean)

Baş Editör

(Editor in Chief)

Prof. Dr. İbrahim BOLAT

Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Yayın Sekreteri

(Publication Secretary)

Doç. Dr. Mehmet MAMAY

Editörler Kurulu

(Editorial Board)

Prof. Dr. İbrahim BOLAT

Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Prof. Dr. David HIGGS

University of Hertfordshire, Hatfield, UK

Prof. Dr. Muhammad ASHRAF

University of Agriculture Faisalabad, Pakistan

Prof. Dr. Bernardo Murillo AMADOR

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, Mexican

Prof. Dr. Levent SON

Mersin Üniversitesi, Silifke Uygulamalı Teknoloji ve İşletmecilik Yüksekokulu, Mersin

Prof. Dr. Levent ÜNLÜ

Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Konya

Prof. Dr. Mustafa BAYRAM

Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gaziantep

Prof. Dr. Saliha KIRICI

Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Adana

Prof. Dr. Hikmet GÜNAL

Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Şanlıurfa

Prof. Dr. Sabri YURTSEVEN
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Şanlıurfa

Doç. Dr. Önder KAMILOĞLU
Mustafa Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Hatay

Doç. Dr. Ali YILDIRIM
Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Şanlıurfa

Doç. Dr. Mehmet MAMAY
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Şanlıurfa

Doç. Dr. Gökhan İsmail TUYLU
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü, Şanlıurfa

Doç. Dr. Ayşe Gülgün ÖKTEM
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Şanlıurfa

Dr. Öğr. Üyesi Remziye ÖZEL
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü, Şanlıurfa

Doç. Dr. Ferhat KÜP
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Makinaları ve Teknolojileri Bölümü, Şanlıurfa

Yabancı Dil Editörleri
(Foreign Language Editors)

Dr. Öğr. Üyesi Shahid FAROOQ
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü

Cilt (Volume): 28

Sayı (Issue): 1

Yıl (Year): 2024

Danışma Kurulu

(Advisory Board)

Prof. Dr. Hsin CHI
National Chung Hsing University, Taiwan, Republic of China
Assoc. Prof. Dr. Oleksiy Derkach
Dnipropetrovsk State Agrarian and Economic Univ., Faculty of Engineering and Tech., Ukraine
Assoc. Prof. Dr. Roman Rolbiecki
University of Tech. and Life Sciences in Bydgoszcz, Faculty of Agriculture and Biotech.,
Poland **Prof. Dr. Abdalbaki BİLGİÇ**
Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarım Ekonomisi Bölümü
Prof. Dr. Ayten NAMLI
Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü
Prof. Dr. Erhan AKKUZU
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü
Prof. Dr. Geza HRAZDINA
Cornell Univ., Collage of Agriculture and Life Sciences, Department of Food Science, USA
Prof. Dr. Ladine BAYKAL ÇELİK
Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü
Dr. Jens D. BERGER
The University of Western Australia, Ecophysiologicalist, Australia
Dr. Muhammed Nasir ROFIQ
Agency for The Assessment and Application of Technology (BPPT), Jakarta, Indonesia

Mizanpaj Editörleri
Dr. Arş. Gör. Ali SARIOĞLU
Arş. Gör. Sabri AKIN
Yazışma Adresi
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 63040 Şanlıurfa
Tel: +90 (414) 318 3474 **Fax:** +90 (414) 318 3682
e-posta: ziraatdergi@harran.edu.tr
Yayın Tarihi: 25.03.2024
Yılda dört kez yayınlanır
Yayınlara erişim adresi: <http://dergipark.org.tr/harranziraat>

Yıl/year: 2024

Cilt/volume: 28

Sayı/number: 1

Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi
Hakemli Olarak Yayınlanmaktadır

Bu Sayıya Katkıda Bulunan Hakemler
(Alfabetik Sıraya Göre Yazılmıştır)

Prof. Dr. Bekir Erol AK
Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. Erol BAYHAN
Dicle Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN
İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Ferit TURANLI
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. İbrahim Özer ELİBÜYÜK
Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. İlknur KORKUTAL
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. Serdar SATAR
Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Serdar TEZCAN
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Serkan ŞAHAN
Erciyes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü

Prof. Dr. Şevket ALP
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mimarlık ve Tasarım Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı
Bölümü

Prof. Dr. Temel GÖKTÜRK
Artvin Çoruh Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Behçet Kemal ÇAĞLAR
Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Bülent BAŞYİĞİT
Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Çetin MUTLU
Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. İslam SARUHAN
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Mehmet KAPLAN
Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Melih YILAR
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Mustafa ALKAN
Yozgat Bozok Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Mürvet KIRCI
İstanbul Teknik Üniversitesi Elektrik ve Elektronik Fakültesi Elektronik ve Haberleşme
Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Nagehan Desen KÖYCÜ
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Nurhan KESKİN
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü

Doç. Dr. Remzi İLAY
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme
Bölümü

Doç. Dr. Sait ERTÜRK
Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
Ankara Ziraî Mücadele Merkez Araştırma Enstitüsü

Doç. Dr. Seda ERSUS
Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Doç. Dr. Selma KÖSA
Akdeniz Üniversitesi, Mimarlık Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü

Doç. Dr. Ümit DEMİR
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Çanakkale Teknik Bilimler Meslek Yüksek
Okulu, Bilgisayar Teknolojileri Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Gülçin AKGÖREN PALABIYIK
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Bilecik Meslek Yüksek Okulu Park ve Bahçe
Bitkileri Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Halil İbrahim ODABAŞ
Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Zahit YEKEN
Bolu Abant İzzet BAYSAL Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi. İlknur GÜMÜŞ
Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Shahid FAROOQ
Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi. Dr. Yakup ÇIKILI
Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü

Assist. Prof. Yaseen MAMMAND GALALİ,
Salahaddin University, College of Agriculture, Department of Nutrition and Food
quality

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha KAYA
Giresun Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Ziba GÜLEY
Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Rafet Kayış Mühendislik Fakültesi, Gıda
Mühendisliği Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Zühal OKCU
Atatürk Üniversitesi, Turizm Fakültesi, Gastronomi ve Mutfak Sanatları Bölümü

Dr. Arş. Gör. Naciye ÜNVER
Harran Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

Dr. Neriman Tuba BARLAS
Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü

Dr. Tülin KILIÇ
Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü
Bornova Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü

Dr. Zeynep Tuğba ÖZASLAN
Gaziantep Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

İçindekiler / Contents

Araştırma Makaleleri / Research Articles

The effect of plant growth regulator bacteria on micro propagation of grapevine rootstock with three different rooting abilities <i>Farklı köklenme yeteneğine sahip asma anaçlarının mikro çoğaltılmasına bitki gelişimini düzenleyici bakterilerin etkisi</i> Neval TOPCU ALTINCI, Fatih ÇİÇEKLİ	1-10
Effect of two different base cuts and indole-3-butyric acid (IBA) doses on rooting of stem cuttings of wild <i>Silene compacta</i> Fischer <i>Doğal <i>Silene compacta</i> Fischer'in gövde çeliklerinin köklenmesi üzerine iki farklı çelik tabanı kesimi ve indol-3-bütirik asit (IBA) dozlarının etkisi</i> Muharrem ARSLAN	11-18
Insecticidal effects of wood vinegars produced from organic wastes on harmful almond leaf bee <i>Cimbex quadrimaculata</i> (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae) <i>Organik atıklardan üretilmiş odun sirkelerinin zararlı badem yaprak arısı <i>Cimbex quadrimaculata</i> (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae)'na insektisidal etkileri</i> İbrahim KOÇ, İnanç ÖZGEN, Aykut TOPDEMİR, Yunus GÜRAL	19-28
Molecular screening of registered durum wheat (<i>Triticum durum</i>) varieties and landraces to common bunt disease in Türkiye <i>Türkiye'de tescilli makarnalık buğday (<i>Triticum durum</i>) ve yerel çeşitlerin sürme hastalığına karşı moleküler taraması</i> Ahmet ÇAT	29-38
The impact and control of Brown marmorated stink bugs on Turkish hazelnut production <i>Kahverengi kokarca böceklerinin Türk fındık üretimine etkisi ve kontrolü</i> Mahir DEMİR	39-48
Effects of a native diatomaceous earth on <i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae), and <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae) <i><i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae), ve <i>Acanthoscelides obtectus</i> (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae) üzerinde yerel diatom toprağının etkileri</i>	49-59

Hilal SUSURLUK, Alperen Kaan BÜTÜNER	
Bitkilerde kalite ve kantite kaybına neden olan <i>Alternaria alternata</i>'ya karşı bazı fungisitlerin in vitro etkinlikleri <i>In vitro efficacy of some fungicides against Alternaria alternata causing quality and ouantity loss in plants</i> Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR, Murat DİKİLİTAŞ, Berfin KILINÇ	60-69
<i>Amaranthus</i> (Amaranthaceae) türleri için iki potansiyel biyolojik kontrol ajanı: <i>Hypolixus pica</i> ve <i>Lixus subtilis</i> (Coleoptera: Curculionidae) <i>Two potential biological control agents for Amaranthus (Amaranthaceae) Species: Hypolixus pica and Lixus subtilis (Coleoptera: Curculionidae)</i> Mesut SIRRI	70-81
Kahramanmaraş İli salçalık biber (<i>Capsicum annuum</i> var. <i>conoides</i>) alanlarındaki thrips türleri ve popülasyon yoğunluklarının belirlenmesi <i>Determination of thrips species and population densities in paste pepper (Capsicum annuum var. conoides) areas in Kahramanmaras Province, Türkiye</i> Alper KOZANOĞLU, Mahmut Murat ASLAN, Ekrem ATAKAN, Zehra Sena GÖZÜBENLİ	82-93
Optimization of process parameters of manna bar, a kind of nougat, production <i>Bir tür nuga olan manna barın üretim parametrelerinin optimizasyonu</i> Ribin Anwer MAHMOOD, Hüseyin BOZKURT	94-107
Some chemical characteristics and volatile compound profiles of wild foxtail lily (<i>Eremurus spectabilis</i>) <i>Yabani çiriş otunun (Eremurus spectabilis) bazı kimyasal özellikleri ve uçucu bileşik kompozisyonu</i> Belkis TEKGÜLER, İlkay KOCA, Oscar ZANNOU, Bülent KARADENİZ	108-117
Alternatif protein kaynağı <i>Spirulina platensis</i> ile zenginleştirilen kefirin γ-aminobütirik asit (GABA), karnosin, anserin, 5-hidroksimetilfurfural (HMF) ve indirgen şeker içeriği <i>γ-aminobutyric acid (GABA), carnosine, anserine, 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and reducing sugar content of kefir fortified with alternative protein source <i>Spirulina platensis</i></i> Murat Emre TERZİOĞLU, Ezgi EDEBALI, İhsan BAKIRCI	118-130
Molehiya (<i>Corchorus olitorius</i> L.) ve Altın otu (<i>Helichrysum arenarium</i> L.) ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri ile fenolik	131-145

bileşenlerinin belirlenmesi <i>Determination of phytochemical contents, antioxidant and antibacterial properties with phenolic compounds of extracts of Molehiya (Corchorus olitorius L.) and Altın otu (Helichrysum arenarium L.)</i> Filiz UÇAN TÜRKMEN, Kibar YAPICI, Elife OSMAN, Gülcan KOYUNCU, Ümit Haydar EROL	
Kekik, lavanta ve tıbbi naneden elde edilen hidrosollerin gilaburu fermantasyonu ve gilaburu suyuna etkileri <i>Effects of hydrosols from thyme, lavender and medicinal mint on gilaburu fermentation and gilaburu juice</i> Fahriye YEŞİLBAŞ, Melike Şeyma KAHRAMAN, Şuheda AKBAŞ, Serap BERKTAŞ, Mustafa ÇAM	146-164
Sınırlandırılmış alanlara uygulanan pH düşürücü bazı materyallerin bazı toprak özellikleri, kiraz ağaçlarının beslenmesi ve meyve özelliklerine etkisi <i>The effect of some pH lowering materials applied in constricted areas on some soil properties, nutrition of sweet cherry trees and pomological properties</i> Kadir UÇGUN, Murat CANSU	165-179



The effect of plant growth regulator bacteria on micro propagation of grapevine rootstock with three different rooting abilities

Farklı köklenme yeteneğine sahip asma anaçlarının mikro çoğaltılmasına bitki gelişimini düzenleyici bakterilerin etkisi

Neval TOPCU ALTINCI^{1*} , Fatih ÇİÇEKLI² 

¹Tokat Gaziosmanpaşa University, Agricultural Faculty, Horticulture Department, Tokat, Turkey

²Middele Black Sea Transitional Zone Agricultural Research Institute, Tokat, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-4734-7832>; ²<https://orcid.org/0000-0003-2914-3614>

To cite this article:

Topcu Altıncı, N. & Çiçekli, F. (2024). The effect of plant growth regulator bacteria on micro propagation of grapevine rootstock with three different rooting abilities. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 1-10
DOI: 10.29050/harranziraat.1374440

*Address for Correspondence:

Neval TOPCU ALTINCI

e-mail:

neval.topcu@gop.edu.tr

Received Date:

12.10.2023

Accepted Date:

18.01.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative
Commons Attribution-Non
Commercial 4.0 International License.

ABSTRACT

In the study, 3 American rootstocks (110 R, 1103 P and 5 BB) with low, medium, and high rooting ability were used, 2 different bacterial isolates *Bacillus cereus* (ZE-7) and *Pseudomonas putida* (ZE-12) and their binary combination and the bottom of the cuttings. It was aimed to determine the effect of bacteria on rooting by treating the rooting part. During the rooting stage, hormone-free MS medium was treated with PGPRs, and in addition, hormone-free MS medium containing 1 mg/l-1 IBA was used to determine the effects of PGPRs strains. At the end of the study, the root ratio of the explants was maintained; root length, number of roots, root fresh weight, root dry weight, shoot length, shoot fresh weight, and shoot dry weight data were examined. It was determined that PGPR applications generally gave higher values than control and IBA applications. Among the rootstocks, it was determined that they gave the best results in terms of root development. The highest values were obtained in the 5BB rootstock, and the lowest values were generally obtained in the 110R rootstock. Shoot development values varied according to the rootstocks and applications. In terms of the effects of the applications on root development, the highest rooting rate was 72.03%, the highest root number ratio was 1.95 on average, and the highest root fresh weight was 39.75 mg from the *Bacillus Cereus* application; Additionally, the highest root dry weight was obtained from *B.cereus+P.putida* application with 13.06 mg. The research highlighted this feature of 5 BB rootstock, which is considered among the easily rooting rootstocks, with its PGPR effect. 110 R, which is known as a difficult rooting rootstock and has high resistance to drought and active lime, which are the biggest threats today, showed a lower rooting rate, but when the values were examined, it was above the control and IBA applications.

Key Words: 5BB rootstock, rooting rate, *in vitro*, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*

Öz

Çalışmada köklenme yeteneği düşük, orta ve yüksek olan 3 Amerikan anacını (110 R, 1103 P ve 5 BB), 2 farklı bakteri izolatı (*Bacillus cereus* (ZE-7) ve *Pseudomonas putida* (ZE-12) ve bunların ikili kombinasyonu ile çeliklerin dip kısmını muamele etmek suretiyle bakterilerin köklenme üzerinde etkisini belirlemek amaçlanmıştır. Köklendirme aşamasında hormondan arı MS ortamı, BBAR'lar ile muamele edilmiş olup ayrıca, BBAR ırklarının etkilerini belirleyebilmek için hormondan arı 1 mg/l⁻¹ IBA içeren MS ortamları kullanılmıştır. Çalışma sonunda sürdürülen eksplantların kök oranı, kök uzunluğu, kök

sayısı, kök yaş ağırlığı, kök kuru ağırlığı, sürgün uzunluğu, sürgün yaş ağırlığı ve sürgün kuru ağırlığı verileri incelenmiştir. BBAR uygulamalarının, genel olarak kontrol ve IBA uygulamalarına oranla daha yüksek değerler verdiği saptanmıştır. Anaçlar arasında kök gelişimi bakımından en yüksek değerler 5BB anacında, en düşük değerler ise genel olarak 110R anacında elde edilmiştir. Sürgün gelişim değerleri anaçlara ve uygulamalara göre değişiklikler göstermiştir. Uygulamaların kök gelişimleri üzerine etkileri açısından en yüksek *Bacillus cereus* uygulamasından en yüksek köklenme %72.03, en yüksek kök sayısı oranı ortalama 1.95 adet ile en yüksek kök yaş ağırlığı 39.75 mg elde edilmiştir; ayrıca en yüksek kök kuru ağırlığı da 13.06 mg ile *B.cereus+P.putida* uygulamasından alınmıştır. Araştırma kolay köklenen anaçlar arasında değerlendirilen 5 BB anacının, BBAR etkisi ile bu özelliğini daha çok ön plana çıkarmıştır. Zor köklenen anaç olarak bilinen, günümüzdeki en büyük tehdit olan kuraklık ve aktif kireçe dayanımı yüksek olan 110 R ise daha düşük bir köklenme göstermiştir, fakat değerler incelendiğinde kontrol ve IBA uygulamalarının üstünde olmuştur

Anahtar Kelimeler: 5BB anacı, köklenme oranı, in vitro, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida*

Introduction

The phylloxera plague, which had only natural distribution before the 19th century, on viticulture emerged as a result of its transport to Europe before 1860. It showed devastating effects on the *Vitis vinifera* L. (*Vitaceae*; *Rhamnales*) species, which is known as the European grape, which was included in this distribution through the first European colonies in the early 18th century, destroying all the vineyards in the European continent after the vineyards in France. It was subsequently carried by colonization to Africa, South America, and Australia/New Zealand (Gökbayrak, 2006). Today, it has spread all over the world, except for parts of Chile, China, and Australia (Granett et al., 2001). Weakening and vine death due to vineyard phylloxera were observed in all regions where the pest spread (Gökbayrak, 2006). Regional drying out in the vineyards may spread to the entire vineyard area in the future, causing not only yield loss but also the loss of the entire vineyard. For this reason, American grapevine species with different levels of resistance to phylloxera are used as rootstocks.

Many rootstocks are used in the world that can adapt to different soil types, have different resistance to drought, lime, salinity, phylloxera, and nematodes, as well as their ability to adapt to *V. vinifera* varieties (Yağcı, 2022) Another factor affecting the selection of rootstocks is the rooting rate. Among the grapevine rootstocks, some rootstocks root easily (5 BB, 1613 C) as well as more difficult rootstocks (110 R, 140 Ru, 41 B) (Howell, 1987; Çelik, 2011).

Although the exact system of root formation is

not known today, it is accepted that some phytohormones (such as auxin) prevent ethylene synthesis and accordingly provide mineralization of nutrients (Goto, 1990; Steenhoudt and Vanderleyden, 2000). In viticulture, IBA and NAA are the most preferred hormones to promote rooting in cuttings (Algül et al., 2016).

In addition to these, there have been many studies in recent years using non-pathogenic rhizobacteria (known as plant growth promoting rhizobacteria -PGPR) such as *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Streptomyces*, *Alcaligenes* for rooting cuttings (Patena et al., 1988; Goto, 1990; Srinivasan et al., 1996; Tripp et al., 1997; Stomp, 1997; Ercişli et al., 2003; Eşitken et al., 2003a; Larraburu et al., 2007; Teixeira et al., 2007; Peyvandi et al., 2010). PGPR's are known as beneficial bacteria strains found in soil. They make important contributions by increasing the root development of plants (Kloepper, 1994; Glick, 1995; Cleyet-Marcel et al., 2001). Bacteria that increase rooting by producing auxin also have other beneficial effects such as inhibiting ethylene synthesis and providing mineral substance uptake (Kapulnik et al., 1985; Lifshitz et al., 1987).

Some reproduction methods: due to negative features such as allowing the production of a limited number of plants over a long period, causing the transmission of systemic diseases and undesirable mutations, needing large reproduction areas and requiring more time for the production of propagation materials, nowadays it is more rapid and massive. It is seen that tissue culture methods, which are more effective in production, gain importance in plant reproduction. Tissue culture methods; allow the

production of strong and healthy plants by creating genetically homogeneous plant populations (Murashige, 1974; Blazina et al., 1991, Figiel-Kroczyńska et al., 2022). In propagation using the tissue culture method, some problems arise in rooting woody plants (Larraburu et al., 2007). To solve these problems, some vitamins (Antonopoulou et al., 2005) and tryptophan (Khalid et al., 2004; Sharma et al., 2014), amino acids (Pedrotti et al., 1994), indole acetic acid (De Klerk et al., 1997) and similar methods were used.

In this study, micro cuttings of 3 American rootstocks (110 R, 1103P and 5 BB) with low, medium and high rooting ability, propagated under *in vitro* conditions, were treated with 2 different PGPR *Bacillus cereus*, *Pseudomonas putida* and their dual combination (*B. cereus*+ *P. putida*) to determine the effect of PGPR on rooting, it was aimed to observe the effect of BBARs on rooting under *in vitro* conditions.

Materials and Methods

Material

Rootstocks

Plant material of 3 American vine rootstock (5BB, 1103P, 110R) with different rooting abilities (high, medium, and low) was obtained from the vineyard of Tokat Gaziosmanpaşa University Application and Research Center.

5 BB; It is a strong rootstock, and its vegetation period is shorter than 420 A rootstock. 5 BB rootstock is a rootstock that can adapt to moist and clay soils. It does not like very arid soils; it is well resistant to around 20% active lime and nematodes. Although it is well rooted, some problems may arise in grafting in the vineyard. In situ inoculations in the field, too many roots are formed from the pen (Howell, 1987; Çelik, 2011; Anonymous, 2023).

110 R; It is one of the most widely used rootstocks recognized since 1945. Since it is a strong growing rootstock, it delays the ripening of the grape variety grafted on it. It is a rootstock that is very resistant to active lime and drought up to 17%. Although the 100 R rootstock, which has a

very weak rooting ability, gives good results in grafting in the field, the lignification of annual sticks remains weak (Howell, 1987; Çelik, 2011; Anonymous, 2023).

1103 Paulsen (1103 P); It develops vigorously, as in 110 R, and adapts well to moist and clayey-calcareous soils and is based on active lime by 17-18%. Rooting and grafting rate of rootstock, which can withstand 0.6 g NaCl/kg salt in the soil, is high (Howell, 1987; Çelik, 2011; Anonymous, 2023).

PGPR applications

Bacillus cereus (ZE-7) and *Pseudomonas putida* (ZE-12) bacterial isolates were used in the study. The isolates used are isolated from the pepper production areas of Tokat Province and are kept as stock cultures in the Phytopathology laboratory.

Method

Establishment of *in vitro* Culture

The samples of rootstocks were thoroughly washed under running tap water with 1–2 drops of Tween 20 for 20 min. After defoliating micro cuttings (1–1.5 cm long) were cut and surface sterilized with 70% (v/v) ethyl alcohol. Thereafter, micro cuttings were washed with sterilized distilled water followed by a 20% (v/v) sodium hypochlorite solution (NaOCl, containing 5% active chlorine) for 20 min together with a few drops of Tween-20 under aseptic conditions of a laminar airflow cabinet. Finally, the explants were thoroughly washed three times (2, 3, and 5 min, respectively) with sterilized distilled water.

Surface sterilized explants were prepared for planting by cutting about 0.5-0.7 cm in length and with 1 active bud on it. 0.5 mgL⁻¹ BA, 3% sucrose and 0.7% bacto agar were added to the MS nutrient medium used in the initial culture stage. The pH was adjusted to 5.8 without adding agar to the nutrient medium (Sivritepe, 1995). In the initial culture, 15 ml of nutrient medium was placed in 105 cc jars and autoclaved at 121°C under 1.06 bar pressure for 20 minutes. In the establishment of *in vitro* culture, one explant was planted in each jar.

Root induction

Nutrient broth bacteria growth media (0.65

gr/50 ml) were prepared for 3 PGPR (*Bacillus cereus* (ZE-7), *Pseudomonas putida* (ZE-12) and their dual combination) in Petri dishes and sterilized in an autoclave at 121°C for 15 minutes. The development media contaminated with PGPR were covered with aluminum foils and kept in a shaker at 27 °C at 200 rpm for 24 hours in the dark. Growing bacteria were diluted with 10% distilled water in a sterile laminar cabinet, then applied to the bottom of the micro cuttings, and then the micro cuttings were planted in hormone-free MS environments. To determine the effects of PGPR strains during the rooting stage, media containing 1 mg/l IBA and hormone free were used in MS media. The planted explants were kept in the growth chamber at a temperature of 24±2 °C and a photoperiod of 16 hours.

6 weeks after the treatments, rooting rate (%), number of roots per explant (pieces or number), root length (cm), shoot length (cm), root fresh and dry weight (mg), shoot fresh and dry weight (mg) were examined. To determine the effect of PGPR on rootstocks, the fresh weights of shoots and roots (mg) were determined with the help of precision balances (Radwag WTB200, Poland) with an accuracy of ±0.001 g. After drying the samples in an oven at 65 °C for 72 hours, root and shoot dry weights (g) were determined with the same precision balance measurement.

Statistical analyses

Experiments were conducted in randomized plots design with 3 replications with 10 saplings in each. The data were analysed with Two-way Factorial ANOVA by using SAS Version 9.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) software. Duncan's multiple range test was used to determine different treatment means when ANOVA showed significant differences among the means. The level of significance was set as 5%.

Results and Discussion

The results of the parameters related to the plant growth and rooting of the plantlets extracted from the rooting conditions are given in Table 1-2. In general terms; Bacteria appear to have a significant effect on rooting rootstocks. In Table 1, the effect of applications on root rate created statistical differences between rootstocks and rootstock x application interaction, and it is seen that *B. cereus* application gave the highest rooting rate (84.80%). In terms of rootstocks, the highest rooting rate was seen in 5 BB (84.80%) rootstocks (Figure 1).

Data on root development of rootstocks after applications are presented in Table 1. In the number of rootstocks, except 110R, there were statistical differences in 1103P and 5BB rootstocks (Table 1). The highest root number was seen in 5BB rootstocks with 2.61 in *B. cereus* bacteria application. When looking at the rootstocks, the highest root length was seen in 5BB rootstock, when evaluated in terms of applications, *B. cereus* application gave the highest root length value. 1103P rootstock gave the highest root length ratio with 2.14 cm in *B. cereus* application, 110R rootstock with 1.49 cm in *B. cereus* application, and 5BB rootstock with 3.13 cm in *B. cereus* application. In terms of root wet weight, when the rootstocks are examined, it is seen that the highest rootstock is 1103P. When evaluated in terms of applications, *B. cereus* application gave the highest root fresh weight. 1103P rootstock gave the highest root fresh weight value with 54.62 mg in *B. cereus* application, 110R rootstock with 31.87 mg in *B. cereus*+ *P. putida* application, and 5BB rootstocks with 40.57 mg in *B. cereus* application. When examined in terms of rootstocks, the lowest root fresh weight was seen in 110R rootstock with 22.51 mg. There was no statistical difference in root dry weight in rootstock, rootstock x application interaction.

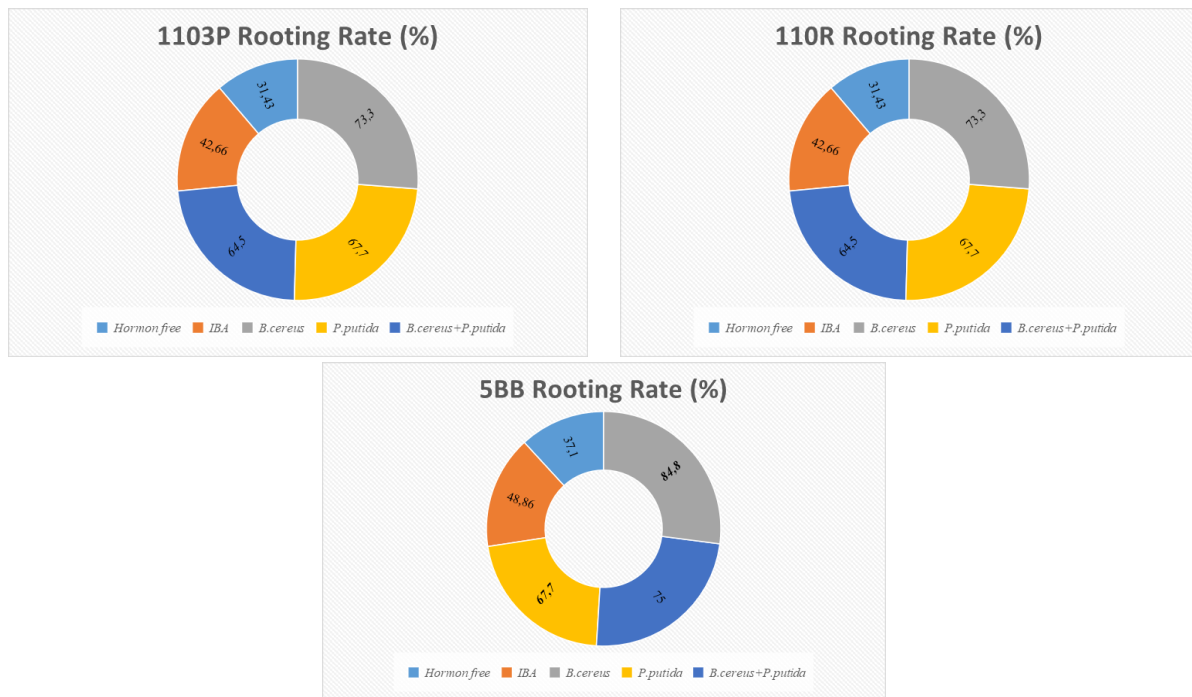


Figure 1. Rooting rates of rootstocks

Table 1. Effects of applications on roots development

	Rootstock	Hormon free	IBA	<i>B. cereus</i>	<i>P. putida</i>	<i>B. cereus</i> + <i>P. putida</i>	Mean
Rooting rate (%)	1103 P	CD 46.30 a	BC 48.50 a	A 58.00 c	B 51.60 b	D 44.80 c	C 49.84
	110 R	C 31.43 b	B 42.66 a	A 73.30 b	A 67.70 a	A 64.50 b	B 55.92
	5 BB	D 37.10 b	C 48.86 a	A 84.80 a	B 67.70 a	AB 75.00 a	A 62.69
	Mean	38.27 d	46.67 c	72.03 a	62.33 b	61.43 b	
Number of roots	1103 P	AB 1.76 a	A 1.97 a	AB 1.79 b	AB 1.51 b	B 1.28 a	B 1.66
	110 R	A 1.58 a	A 1.66 a	A 1.46 b	A 1.37 b	A 1.25 a	B 1.46
	5 BB	B 1.66 a	B 1.74 a	A 2.61 a	AB 2.04 a	B 1.67 a	A 1.94
	Mean.	1.67 ab	1.79 a	1.95 a	1.64 ab	1.40 b	
Root length (cm)	1103 P	B 1.61 b	AB 1.84 a	A 2.14 ab	AB 1.83 a	AB 1.79 ab	B 1.90
	110 R	C 0.86 c	BC 1.10 b	A 1.49 b	BC 1.05 b	AB 1.31 b	C 1.16
	5 BB	B 2.14 a	AB 2.51 a	A 3.13 a	B 2.07 a	B 2.30 a	A 2.43
	Mean.	1.53 b	1.82 b	2.35 a	1.65 b	1.80 b	
Root fresh weight (mg)	1103 P	B 15.40 a	AB 23.22 a	A 54.62 a	AB 26.98 a	AB 29.97 a	A 30.05
	110 R	B 14.76 a	B 16.27 a	AB 24.08 a	AB 25.58 a	A 31.87 a	A 22.51
	5 BB	C 18.33 a	BC 26.03 a	A 40.57 a	BC 25.29 a	B 28.95 a	A 27.83
	Mean	16.16 c	21.87 bc	39.75 a	25.95 bc	30.26 ab	
Root dry weight (mg)	1103 P	A 3.12 a	A 5.23 a	A 7.46 a	A 6.06 a	A 11.15 a	A 6.60
	110 R	A 3.63 a	A 3.77 a	A 5.29 a	A 5.66 a	A 13.34 a	A 6.32
	5 BB	A 4.28 a	A 5.97 a	A 7.88 a	A 5.14 a	A 14.70 a	A 7.65
	Mean	3.68 b	4.99 b	6.87 b	5.71 b	13.06 a	

A, B, C: → Different capital letter on the same line represent statistically significant differences among the applications ($p < 0.05$).
a, b, c: ↓ Different lowercase letter on the same column represent statistically significant differences among the rootstocks doses ($p < 0.05$).

Among the shoot length applications, *P. putida* was statistically insignificant, while IBA application gave the highest shoot length. In the rootstock x application interaction, the highest shoot length was measured as 3.72 cm in 1103P in IBA application and 3.61 cm in 5BB rootstocks (Table

2). While 5BB rootstock gave the highest shoot fresh weight to rootstocks, *B. cereus* application gave the highest shoot fresh weight ratio when evaluated in terms of applications. 1103P rootstock gave the highest rooting rate with 75.14 mg in *B. cereus* application, 110R rootstock with

129.75 mg in *B. cereus*+ *P. putida* application, and 5BB rootstocks with 71.53 mg in *B. cereus* application. When the lowest fresh shoot weight was examined in terms of rootstocks, it gave 43.56 mg of 1103P (Table 2). When looking at the rootstocks, 5BB rootstock gave the highest shoot dry weight ratio, while when evaluated in terms of applications, *B. cereus* application gave the highest

shoot dry weight ratio. 1103P rootstock gave the highest shoot dry weight ratio with 13.66 mg in *B. cereus* application, 110R rootstock with 18.24 mg in *B. cereus* application, and 5BB rootstocks with 16.10 mg in *B. cereus* application. The lowest shoot dry weight ratio among rootstocks was 8.63 mg with 1103P (Table 2).

Table 2. Effects of applications on shoots development

	Rootstock	Hormon free	IBA	<i>B.cereus</i>	<i>P.putida</i>	<i>B.cereus</i> + <i>P.putida</i>	Mean
Shoots lenght (cm)	1103P	A 3.59 a	A 3.72 a	B 1.74 b	B 1.55 a	B 1.06 b	A 2.33
	110R	A 2.05 b	AB 1.83 b	BC 1.37 b	C 1.03 a	BC 1.26 b	B 1.51
	5BB	A 2.77 b	A 3.61 a	B 2.65 a	C 1.60 a	C 1.58 a	A 2.44
	Mean	2.80 a	3.06 a	1.92 b	1.39 c	1.30 c	
Shoot fresh weight (mg)	1103P	A 29.46 b	A 46.30 a	A 75.14 a	A 38.48 a	A 28.43 a	A 43.56
	110R	B 50.16 a	B 27.77 b	AB 82.08 a	B 49.46 a	A 46.67 a	A 46.66
	5BB	C 38.75 ab	BC 49.76 a	A 71.53 a	ABC 58.87 a	AB 65.74 a	A 56.93
	Mean	39.46 b	41.28 b	76.25 a	48.94 b	46.95 b	
Shoot dry weight (mg)	1103P	B 5.66 a	AB 9.96 a	A 13.66 a	AB 10.08 a	B 3.80 b	B 8.63
	110R	A 8.67 a	A 5.05 b	A 18.24 a	A 9.00 a	A 10.57 a	AB 10.30
	5BB	B 8.23 a	AB 11.68 a	A 16.10 a	AB 12.54 a	A 15.91 a	A 12.89
	Mean	7.52 b	8.90 b	16.00 a	10.54 b	10.09 b	

A, B, C: →Different capital letter on the same line represent statistically significant differences among the applications ($p<0.05$).

a, b, c: ↓ Different lowercase letter on the same column represent statistically significant differences among the rootstocks doses ($p<0.05$).

PGPR are bacteria that live in the rhizosphere and can directly and/or indirectly improve the extent or quality of plant growth. Direct promotion of PGPR involves either providing the plant with plant growth promoting agents or helping plants mobilize and uptake nutrients from the rhizosphere (Amarouchi et al., 2021). Among the main beneficial activities of PGPR are there is the conversion of minerals in the soil into the form that the plant can take, nitrogen fixation, suppression of pathogens and the production of hormones that promote plant growth (Berg et al., 2013; Mendes et al., 2013).

There is some data on the effect of beneficial microorganisms on rooting, growth promotion, and reduction of hyperhydricity in *in vitro* cultivars (Frommel et al., 1991; Burns and Schwarz, 1996; Carletti et al., 1998; Nowak 1998). In the field of viticulture, these PGPR's are used in controlling disease agent (Ferreria et al., 2022; Fu et al., 2022), in storage (Chen et al., 2022), in organic viticulture

(Ostroukhova et al., 2022; Korkutal et al., 2017) and to promote plant growth in greenhouse/field conditions (Köse et al., 2005; Sabır et al., 2012).

In-vivo studies examining the effects of PGPR strains on the rooting and shoot growth of vines; showed that these bacterial groups have positive effects on root formation (Di Marco and Osti, 2008; Sabır et al., 2012; Sabır, 2013; Mahmood, 2015). Eşitken (2003b) stated that PGPR, with their various hormonal potentials, can be used for various purposes such as rooting of cutting, grafting union, fruit setting and thinning, lateral root formation, increasing tolerance against abiotic stress as well as growth, development, and biological control with root inoculation and/or spraying. However, studies on promoting rooting in *in-vitro* propagation remained limited. In a study examining the effects of bacteria on vineyard disease agents, it was stated that PsJN (*Pseudomonas* sp.) stimulated the growth of grapevine plantlets grown *in-vitro* for two

generations, and the beneficial effect of the second generation was more pronounced compared to the first generation. In addition, in the same study, it was stated that *Pseudomas* sps caused an increase in shoot and root dry weight and the number of nodes (Barka et al., 2000). When the results of the study are examined, the positive effect of PGPRs on root development is presented in parallel with the literature

information given above. In the study, it is seen that bacterial applications give higher values compared to control and IBA applications. When the results are analyzed in terms of rootstocks, it is seen that 5BB rootstocks, which are considered among the easily rooted rootstocks, bring this feature to the forefront with the effect of PGPR (Figure 2).

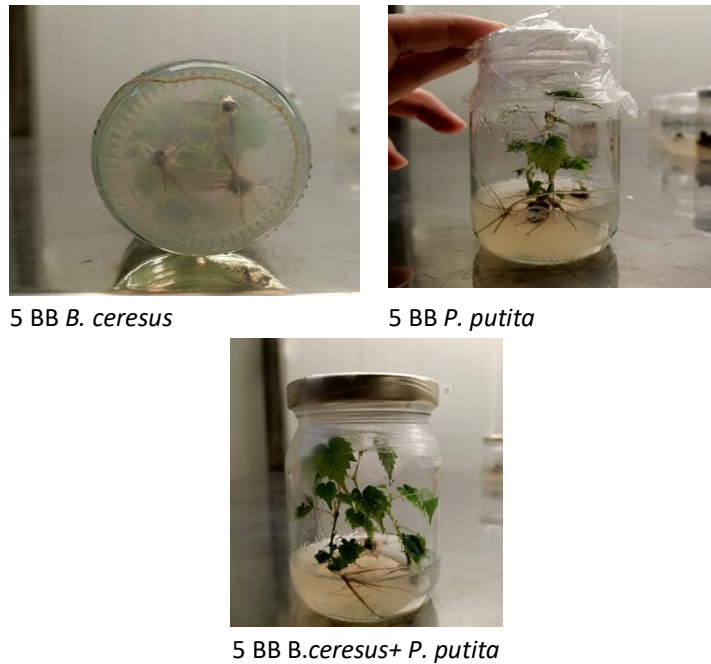


Figure 2. The effect of bacteria on rooting 5 BB rootstock (original photograph by Neval Topcu Altıncı, 2021)

The 110R rootstock, which is known as hard-to-root rootstock and has high resistance to drought and active lime, which is the biggest threat today, showed a lower rooting rate, but these values were above control and IBA applications. *In-vitro* studies are one of the methods frequently used in the production of plant materials that are difficult to reproduce. For this reason, it is seen as a method that can be used in seedling production or in the propagation of these grapevine rootstocks, which are difficult to root in field conditions.

Conclusions

Sustainable and environmentally friendly agricultural practices come to the force to lead a quality and healthy life in a changing, developing and increasing population. PGPRs are one of the solutions that should be used in this sector. In our study, positive effects of antagonistic bacteria on

American grapevine rootstocks with different rooting abilities were observed *in vitro*. The research highlighted this feature of 5 BB rootstock, which is considered among the easily rooting rootstocks, with its BBAR effect. 110 R, which is known as a difficult rooting rootstock and has high resistance to drought and active lime, which are the biggest threats today, showed a lower rooting rate, but when the values were examined, it was above the control and IBA applications. Considering the role of *in vitro* propagation in rapid and healthy plant production, it is thought that these two factors can be used in an integrated manner to create a practical way to obtain rootstocks that root hard.

Acknowledgements: This study was produced from a first author's Master thesis, named *İn Vitro* Koşullarda Bazı Amerikan Asma Anaçlarında Bitki Gelişimini Teşvik Eden Bakterilerin Köklenme

Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi / Determination of The Effects of Antagonistic Bacteria on Rooting in Some American Vine Rootstocks *in Vitro* Conditions', presented at Tokat Gaziosmanpaşa University. (YOK Thesis No: 713995 /Date: 19.01.2022).

In this study, we would like to thank Asst. Prof. Dr. Sabriye Belgüzar and Dr. Zeliha Kayaaslan for their permission to use the bacteria obtained as a result of the study titled Diagnosis, Epidemiology and Biological Control of Bacterial Spot Disease (*Xanthomonas euvesicatoria*) in Pepper Production Areas of Tokat Province (Tokat İli Biber Üretim Alanlarında Bakteriyel Leke Hastalığı Etmeni (*Xanthomonas euvesicatoria*)'nin Tanılanması, Epidemiyolojisi ve Biyolojik Mücadelesi).

Conflict of Interests: The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results. The authors declare no conflict of interest.

Authors' Contribution: This article was prepared from the N.T.A. statistical analysis, writing, editing, and submitting the manuscript; F.Ç data collection and analysis and writing.

References

- Algül, B. E., Tekintaş, F. E., & Dalkılıç, G. (2016). The Usage of Plant Growth Regulators and Hormone Biosynthesis Booster Applications. *Journal of Adnan Menderes University Agricultural Faculty* 2016; 13(2):87-95. DOI: <https://doi.org/10.25308/aduziraat.294100>
- Amarouchi, Z., Esmaeel, Q., Sanchez, L., Jacquard, C., Hafidi, M., Vaillant-Gaveau, N., & Ait Barka, E. (2021). Beneficial microorganisms to control the gray mold of grapevine: from screening to mechanisms. *Microorganisms* 9:1386. DOI: . <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071386>
- Anonymous (2023). <https://www.plantgrape.fr/en/varieties/rootstock-varieties/21>
- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C., & Tsirakoglou, V. (2005). Inhibitory effect of riboflavin (Vitamin B2) on the *in vitro* rooting and nutrient concentration of explants of peach rootstock GF 677 (*Prunus amygdalusx P. persica*), *Scientia Horticulturae* 106, 268-272. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2005.02.019>
- Barka, E. A., Belarbi, A., Hachet, Nowak, C. J., & Audran, J. C. (2000). Enhancement of *in vitro* growth and resistance to grey mould of *Vitis vinifera* co-cultured with plant growth-promoting rhizobacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 186: 91-95. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb09087.x>
- Berg, G., Alavi, M., Schmidt, C., Zachow, C., Egamberdieva, D., Kamilova, B., & Lugtenberg, B. J. J. (2013). Biocontrol and osmoprotection for plants under salinated conditions. *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere* (de Bruijn FJ, ed), pp. 587–592. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781118297674.ch55>
- Blazina, I., Korosec-Koruza, Z., Ravinkar, M., & Gogala, N. (1991). Regeneration and micropropagation of the grapevine (*Vitis vinifera* L.' zelen ') from shoot tip meristem. *Acta Horticulturae*, 300: 123-126.
- Burns, J. A., & Schwarz, O. J. (1996) Bacterial stimulation of adventitious rooting on *in vitro* cultured slash pine (*Pinus elliotii* Engelm.) seedling explants. *Plant Cell Rep* 15:405–408. DOI: 10.1007/BF00232064
- Carletti, S. M., Llorente, B., Rodríguez C'aceres, E., & Tandecarz, J. (1998) Jojoba inoculation with *Azospirillum brasilense* stimulates *in vitro* root formation. *Plant Tissue Cult Biotech* 4:165–174
- Chen, C., Zhang, X., Wei, X., Zhu, Y., Chen, W., & Han, Y. (2022). Postharvest biological control of *Botrytis cinerea* and the mechanisms underlying the induction of disease resistance in grapes by *Lactobacillus plantarum* CM-3. *Biological Control* 172 (Art. 104982) 15 pp., 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.104982>
- Cleyet-Marcel, J.C., Larcher, M., Bertrand, H., Rapior S., & Pinochet, X. (2001). Plant growth enhancement by rhizobacteria. In: MorotGaudry, J.-F. (Ed.), *Nitrogen Assimilation by Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Aspects*. Science Publishers Inc., Plymouth, UK, pp. 185–197.
- Çelik, S. (2011). Bağcılık (Ampeloloji). Namık Kemal Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Cilt 1, 3. Baskı, Tekirdağ.
- De Klerk, G. J., Ter Brugge, J., & Marinova, S. (1997). Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in Malus 'Jork 9', *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 49,39-44.
- Di Marco, S., & Osti, F. (2007). Effects of Trichoderma applications on vines grown in organic nursery IFOAM Organic World Congress, Modena, Italy, June 16-20, 2008.
- Ercişli, S., Eşitken, A., Cangi, R., & Şahin, F. (2003). Adventitious root formation of kiwifruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. *Plant Growth Regulation* 41: 133-137.
- Eşitken, A., Ercişli, S., Şevik, İ., & Şahin, F. (2003). Effect of indole-3- butyric acid and different strains of *Agrobacterium rubi* on adventitive root formation from softwood and semi-hardwood wild sour cherry cuttings. *Türk J Agric For* 27, 37-42 Tubitak.
- Eşitken, A., Karlıdag, H., Ercisli, S., Turan, M., & Sahin, F. (2003). The effect of spraying a growth promoting bacterium on the yield, growth and nutrient element composition of leaves of apricot (*Prunus armeniaca* L. cv. Hacıhaliloglu). *Aust J Agr Res* 54: 377–380

- Ferreira, G. M., Moreira, R. R., Jarek, T. M., Nesi, C. N., Biasi, L. A., & Mio, L. L. M. (2022). Alternative control of downy mildew and grapevine leaf spot on *Vitis labrusca*. *Australasian Plant Pathology* 51 (2) 193-201, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13313-021-00836-7>
- Frommel, M. I., Nowak, J., & Lazarovits, G. (1991). Growth enhancement and developmental modifications of *in vitro* grown potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by a nonfluorescent *Pseudomonas* sp. *Plant Physiol.*, 96 (1991), pp. 928-936
- Figiel-Kroczyńska, M., Krupa-Mańkiewicz, M., & Ochmian, I. (2022). Efficient micropropagation protocol of three cultivars of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Not Bot Horti Agrobo* 50(4):12856. DOI:10.15835/nbha50412856
- Fu, L., Cai, R., Feng, Z., Song, X., Zhu, Y., & Shi, F. (2022). Screening of biocontrol *Bacillus* spp. and its suppression efficacy on grape gray mold. *Chinese Journal of Biological Control* 38 (2) 440-446, DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2022.02.016
- Glick, B. R. (1995). The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 41, 109–117. DOI: <https://doi.org/10.1139/m95-015>
- Goto, M. (1990). *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*, Academic Press. Inc. San
- Gökbayrak, Z. (2006). Troublesome Pest of Viticulture: Phylloxera. *Alatırım* 2006, 5, 37–43.
- Granett, J., Walker, M., Kocsis, L., & Omer, A. D. (2001). *Biology and Management of Grape Phylloxera*. *Annual Review of Entomology* 46:387-412.
- Howell, G. S., (1987). *Vitis Rootstocks*. In: Rom, R. C., Carlson, R. F. (Eds.), *Rootstocks for Fruit Crops*, A Wiley P Inter Sciece Publication, John Wiley and Sons, NewYork, Inc, p 451–472
- Khalid, A., Arshad, M., & Zahir, Z. A. (2004). Screening plant growth-promoting rhizobacteria for improving growth and yield of wheat, *Journal of Applied Microbiology*, 96, 473-480. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.02161.x>
- Kloepper, J. W. (1994). Plant growth-promoting rhizobacteria. In: Okon, Y. (Ed.), *Azospirillum/Plant Associations*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 137–166.
- Korkutal, I., Bahar, E., & Gunes, N. (2017). Different doses effects of *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* on cv. Syrah: I. young plants performance during growing period in organic viticulture. 2nd International Balkan Agriculture Congress, Tekirdag, Turkey, 16-18 May 2017, pp. 650-657
- Köse, C., Güleriyüz, M., Şahin, F., & Demirtaş, İ. (2005). Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on graft union of grapevine. *J Sustain Agric.* 26(2): 139-147. DOI: https://doi.org/10.1300/J064v26n02_10
- Larraburu, E. E., Carletti, S. M., Rodríguez Cáceres, E. A., & Llorente, B. E. (2007). Micropropagation of photinia employing rhizobacteria to promote root development, *Plant Cell Reports*, 26 (6), 711-717. DOI: 10.1007/s00299-006-0279-2
- Mahmood, M. N. (2015). Effect of different doses of biofungicides on growth characteristics of Merlot vines grafted on to 110R rootstock. *Namık Kemal University, Graduate School of Natural and Applied Sciences*, Tekirdağ. 146s.
- Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 634–663. DOI: <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Murashige, T., & Skoog, F. A. (1962). A Revised medium for Rapid Growth and Bioassays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiol. Plant.* 15, pp. 473-497.
- Nowak, J., Asiedu, S. K., Bensalim, S., Richards, J., Stewart, A., Smith, C., Stevens, D. and Sturz, A. V. (1998) From laboratory to applications: challenges and progress with *in vitro* dual cultures of potato and beneficial bacteria. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 52, 97-103. DOI: 10.1007/978-94-015-8951-2_39
- Ostroukhova, E., Peskova, I., Levchenko, S., Vyugina, M., Belash, D., & Shadura, N. (2022). The use of a microbiological preparation based on *Bacillus subtilis* in organic viticulture Source: BIO Web of Conferences 48 (Art. 02006) 8 pp., 2022. DOI:10.1051/bioconf/20224802006
- Patena, L., Sutter, E. G., & Dandekar, A. M. (1988). Root induction by *Agrobacterium rhizogenes* in a difficult to root woody species. *Acta Horticulturae* 227: 324-329. DOI: 10.17660/ActaHortic.1988.227.59
- Pedrotti, E. L., Jay-Allemand, C., Dumas, P., & Cornu, D. (1994). Effect of autoclaving amino acids on *in vitro* rooting response of wildcherry shoot. *Scientia Horticulturae* 57 (1): 89-98. DOI: [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(94\)90037-X](https://doi.org/10.1016/0304-4238(94)90037-X)
- Peyvandi, M., Farahani, F., Mazinani, M. H., Noormohamadi, Z., Ataii, S., & Asgharzade, A. (2010). *Pseudomonas* fluorescent and its ability to promote root formation of olive micro shoots. *International Journal of Plant Production* 4 (1)
- Sabir, A. (2013). Improvement of grafting efficiency in hard grafting grape Berlandieri hybrid rootstocks by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Scientia Horticulturae (Amsterdam)*, 164, 24–29. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.035>
- Sabir, A., Yazici, M. A., Kara, Z., & Şahin, F. (2012). Growth and mineral acquisition response of grapevine rootstocks (*Vitis* spp.) to inoculation with different strains of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *J Sci Food and Agric* 92(10): 2148-2153. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.5600>
- Sharma, V., Kamal, B., Srivastava, N., Negi, Y., Dobriyal, A. K., & Jadon, V. S., (2014). Enhancement of *in vitro* growth of *Swertia chirayita* Roxb. Ex Fleming cocultured with plant growth promoting rhizobacteria, *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 121, pages215–225 (2015). DOI: 10.1007/s11240-014-0696-9
- Sivritepe, N. (1995). *Researches on salt resistance tests and some factors affecting salt resistance in grapevines*. Uludağ University Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Horticulture (PhD thesis), Bursa, 176 s.
- Srinivasan, M., Holl, F. B., & Petersen, D. J. (1996). Influence of indoleacetic-acid-producing *Bacillus* isolates on the nodulation of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* under gno to biotic conditions, *Canadian Journal of Microbiology* 42 (10): 1006-1014. DOI: <https://doi.org/10.1139/m96-129>
- Steenhoudt, O., & Vanderleyden, J. (2000). *Azospirillum*, a

- free-living nitrogen- fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspect, *FEMS Microbiology Reviews*, 24, 487-506. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2000.tb00552.x>
- Teixeira, D. A., Alfenas, A. C., Mafia, R. G., Ferreira, E. M., De Siqueira, L., Maffia, L. A., & Mounteer, A. H. (2007). Rhizobacterial promotion of eucalypt rooting and growth. *Brazilian Journal of Microbiology* 38: 118-123. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000100025>
- Tripp, K. E., & Stomp, A. M. (1997). Horticultural applications of *Agrobacterium rhizogenes* (hairy-root): enhanced rooting of difficult to root woody plants. *Combined Proceedings of the International Plant Propagators' Society* 47: 527-535.
- Yağcı, A. (2022). Bağcılık (Lecture notes). <https://antalya.tarimorman.gov.tr/Belgeler/bagcilik.pdf> (date of access: 12.02.2023)



Effect of two different base cuts and indole-3-butyric acid (IBA) doses on rooting of stem cuttings of wild *Silene compacta* Fischer

Doğal *Silene compacta* Fischer'in gövde çeliklerinin köklenmesi üzerine iki farklı çelik tabanı kesimi ve indol-3-bütirik asit (IBA) dozlarının etkisi

Muharrem ARSLAN^{1*}

¹Aydın Adnan Menderes University, Koçarlı Vocational School, Department of Park and Horticulture, Aydın, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-9543-560X>

To cite this article:

Arslan, M. (2024). Effect of two different base cuts and indole-3-butyric acid (IBA) doses on rooting of stem cuttings of wild silene compacta fischer . Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 11-18
DOI: 10.29050/harranziraat.1397407

***Address for Correspondence:**
Muharrem ARSLAN
e-mail:
arslanmuharrem07@gmail.com

Received Date:

28.11.2023

Accepted Date:

26.02.2024

ABSTRACT

Silene compacta Fisch. ex Hornem., which grows naturally, is a plant species with high ornamental plant potential in the *Silene* L. genus of the *Caryophyllaceae* family. Vegetative propagation is one of the important ways to preserve naturally growing and cultivated plant species. In this study, the effect of two different cutting areas of the cutting base (above the node-below the node) and five different indole-3-butyric acid (IBA) doses (control, 500, 1000, 2000 and 4000 ppm) on the rooting of stem cuttings taken from individuals of the natural *S. compacta* species were investigated. IBA was applied to the cuttings' bases in a commercial rooting powder. Perlite+peat mixture at a ratio of 1:1 (v/v) was used in the rooting medium. Survival rate, rooting percentage, blooming rate, root number, root length, seedling height, seedling stem diameter, side shoot number, shoot length and shoot stem diameter were evaluated. The evaluation was made one month after the start of the experiment. As a result, the highest survival rate in cuttings was obtained from above-node control group (100%) and under-node 2000 ppm IBA (95%) application, and the highest rooting percentage was obtained from under-node 2000 ppm IBA (68%) and above-node control group (65%), respectively. Based on the results, it can be concluded that different cuttings of the cutting base and IBA concentrations have different effects on the rooting success of the *S. compacta* species with stem cuttings.

Key Words: *Silene compacta*, Ornamental plant, IBA, Rooting, Vegetative propagation

ÖZ

Doğal olarak yetişen *Silene compacta* Fisch. ex Hornem., karanfilgiller (*Caryophyllaceae*) familyasının *Silene* L. cinsi içerisinde süs bitkisi potansiyeli yüksek olan bir bitki türüdür. Doğal olarak yetişen ve kültürü yapılan bitki türlerinin korunmasındaki önemli yollardan biri de vejetatif çoğaltmadır. Bu çalışmada, doğal *S. compacta* türünün bireylerinden alınan gövde çeliklerinin köklenmesi üzerine çelik tabanının iki farklı kesim yerinin (boğum üstü-boğum altı) ve beş farklı indol-3-bütirik asit dozunun (kontrol, 500, 1000, 2000 ve 4000 ppm) etkisi araştırılmıştır. IBA, çeliklerin tabanlarına ticari bir köklendirme tozu içinde toz olarak uygulanmıştır. Köklendirme ortamı olarak 1:1 (v/v) oranında perlit+torf karışımı kullanılmıştır. Canlılık oranı, köklenme yüzdesi, çiçeklenme oranı, kök sayısı, kök uzunluğu, fide yüksekliği, fide gövde çapı, yan sürgün sayısı, sürgün uzunluğu ve sürgün gövde çapı yönünden değerlendirme yapılmıştır. Deney, bir ay sonra sonlandırılmıştır. Sonuç olarak, çeliklerde sırasıyla en yüksek canlılık oranı boğum üstü kontrol grubu (%100) ve boğum altı 2000 ppm IBA (%95) uygulamasından, en yüksek köklenme yüzdesi ise boğum altı 2000 ppm IBA (%68) ve boğum üstü kontrol grubu (%65) uygulamasından elde edilmiştir. Sonuçlara dayanarak, çelik tabanının farklı kesimi ve IBA konsantrasyonlarının *S. compacta* türünün gövde çelikleriyle köklendirme başarısı üzerinde farklı etkiye sahip olduğu sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: *Silene compacta*, Süs bitkisi, IBA, Köklenme, Vejetatif çoğaltma



Introduction

Silene L., which has been an ecologically important plant group since ancient times, is a member of the *Caryophyllaceae* family (Ferreira *et al.*, 2015). *Silene* L., one of the largest genera in the world flora, contains approximately 870 plant species (Eggens *et al.*, 2020; Guner *et al.*, 2012; Jafari *et al.*, 2020; Moilola *et al.*, 2021).

Silene compacta Fisch. ex Hornem., which grows naturally, is a plant species with high ornamental plant potential in the *Silene* L. genus of the *Caryophyllaceae* family. *S. compacta*, which has phytoremediation potential, has a very important advantage in landscape planning with its ornamental plant feature (Kosa and Karaguzel, 2020; Wei *et al.*, 2021). It has side-branched inflorescences, pink flowers, upright form, very small seeds, striped on the back and flat on the sides (Draghia and Chelariu Zaharia, 2011). It is naturally found in the altitude range of 0-2100 m in the Western, Northern, Eastern, Southern and Central Anatolian regions of Türkiye. It is a single, biennial or perennial herb form, completely hairless (Coode and Cullen, 1967; Kosa and Karaguzel, 2020). It has head-shaped flowers consisting of numerous pink-colored florets. It grows naturally on steep slopes, stream edges, shores, forest clearings, stones and cliffs. When the literature studies on *S. compacta* are examined, it is seen that the research on this species is quite limited, and no data has been found especially for its vegetative propagation.

Natural plant species are in danger of extinction under the influence of many factors such as mines, forest fires, increasing urbanization and climate changes. Therefore, it is necessary to identify natural plant species with economic and ornamental plant potential and to bring them into the ornamental plants sector. Thus, *ex-situ* and *in-situ* conservation of natural plant species will be possible (De Souza and Beckmann-Cavalcante, 2022).

Interest in natural plant species is increasing day by day. Detection and identification of plant species with ornamental plant characteristics and

determination of reproduction methods can both reduce the risk of extinction and bring them into the ornamental plants sector. Cuttings are a rapid vegetative propagation method that allows the preservation of traits of interest and promotes *ex-situ* conservation of native species (Villa *et al.*, 2017; Assumpção Bastos *et al.*, 2020).

In plant production, growth regulators (auxins) are widely used as rooting enhancers (Pacholczak and Żatkiewicz, 2022). Auxins are used to stimulate the development of roots (Assumpção Bastos *et al.*, 2020). The most widely used of this auxin group is indole-3-butyric acid (IBA) (Cassol *et al.*, 2017; Azad *et al.*, 2018; Costa Junior *et al.*, 2018; Pêgo *et al.*, 2019; Dias Bezerra *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021; Adiba *et al.*, 2022; Solgi *et al.*, 2022; Xie *et al.*, 2023).

Nowadays, the emergence of a new breed for commercial flower production is rare. Within a common genus, the introduction of new species is more common, and the dissemination of new varieties from these species is certainly more appropriate. However, it is difficult to develop and launch a taxon that can be commercially successful and profitable. One of the stages of introducing natural plants into the sector as ornamental plants and taking them into culture is to determine the appropriate propagation protocol. Propagation by cuttings, which is one of the vegetative propagation methods, is one of the primary methods that should be taken into consideration in the first attempts (Alp *et al.*, 2020).

The objective of this study was to evaluate the vegetative propagation of stem cuttings of *S. compacta*, which grows naturally in Bolu province and has high ornamental plant potential, using two different base cuttings and five different indole-3-butyric acid (IBA) concentrations.

Material and Methods

In this study carried out in May-June 2021, the stem cuttings of *S. compacta* (Figure 1) were used. The cuttings were taken from *S. compacta*, which grows naturally in Bolu, located in the geographical coordinates of 40° 32'-40° 38' N, 32° 10'-32° 20' E

and at an altitude of 1300-1600 m. The experiment was carried out in the unheated greenhouse of Aydın Adnan Menderes University Faculty of Agriculture, located at the geographical coordinates of 37° 45' N 27° 45' East and at an altitude of 61 m. The cuttings used in the research were prepared in two different base cuts, 10±2 cm in length, half cut double leaf, straight with a sharp knife, from the main stem, under and above the node. The prepared cuttings were surface sterilized in 1% sodium hypochlorite (NaClO) solution for 5 min. Then, the cuttings were washed thoroughly with distilled water and kept in distilled water for 5 min. Before planting, five different IBA concentrations (control, 500, 1000, 2000 and 4000

ppm) mixed with talcum powder were applied to the cuttings' bases in powder form to stimulate rooting. The humidity and temperature of the greenhouse were recorded daily with a thermo-hygrometer (Figure 2). This study, with 200 cuttings in total, was carried out in a rooting medium in an equal volume white styrofoam foam box with a 1:1 ratio of perlite+peat mixture (v/v). Each application was established according to the random plot design with 4 replications and 10 cuttings in each replication, with a total of 40 cuttings. The medium was sprayed with fungicide (50% Captan) every two weeks. The experiment was terminated after 30 days.

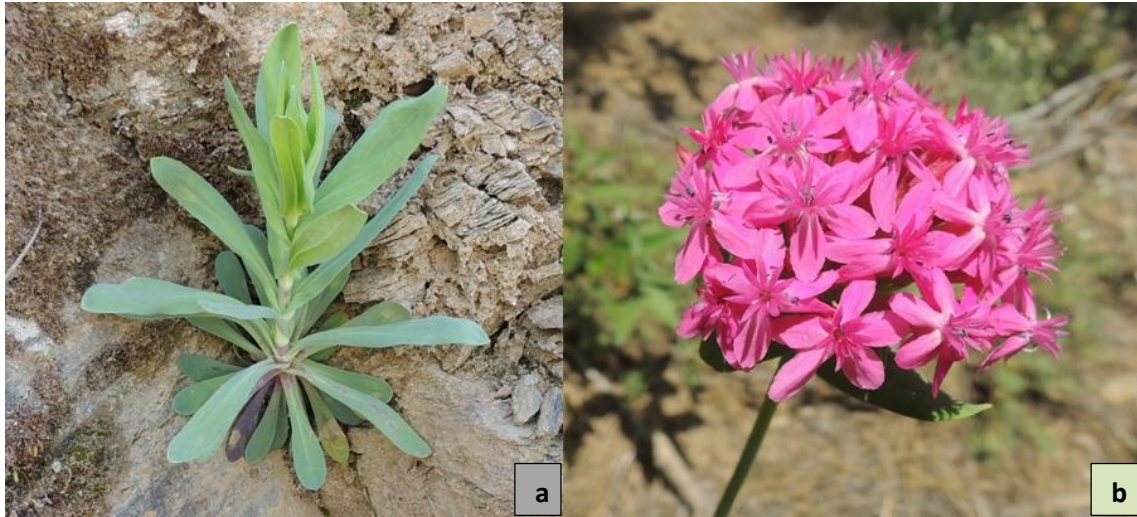


Figure 1. Seedling (a) and flower (b) of wild *S. compacta* species, which constitutes the material of the study.

Survival rate (%), rooting percentage (%), blooming rate (%), root number (piece), root length (mm), seedling height (cm), seedling stem diameter (mm), side shoot number (piece), shoot length (cm) and shoot stem diameter (mm) were evaluated.

Log10 transformation was performed on the obtained variable data (West, 2022). The difference between the treatments was determined by one-way analysis of variance

(ANOVA). Means with difference were compared using Tukey's HSD test ($p < 0.05$). IBM SPSS Statistics 22.0 software was used for data statistical analysis.

Results and Discussion

At the end of the one-month experiment, the daily average temperature and humidity values of the rooting greenhouse were recorded between 22-33 °C and 62-87% (Figure 2), respectively.

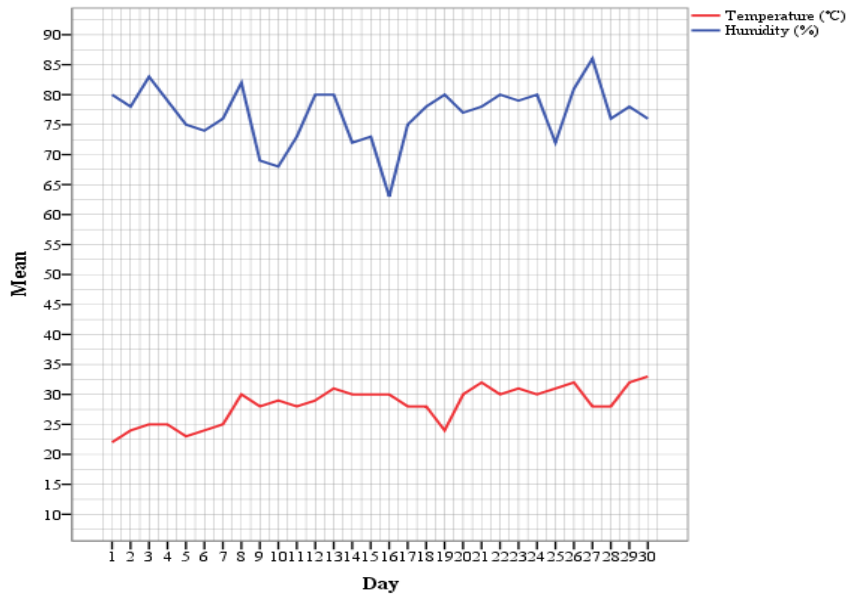


Figure 2. Average temperature (°C) and humidity (%) values measured daily in the trial greenhouse.

Survival rate, rooting percentage, blooming rate, root length, seedling height, seedling stem diameter and side shoot number were affected by different IBA concentrations and the above-under the node cuts of the cutting bases ($p < 0.05$). However, for root number, shoot length and shoot stem diameter, there was no significant difference in stem cuttings of wild *S. compacta* in terms of both different IBA concentrations and the above-under the node cuts of the cutting bases ($p > 0.05$; Table 1).

In terms of survival rate, the highest effect was obtained from above the node control group (100%), and the lowest effect was obtained from above the node 4000 ppm IBA (55%) application. The survival rate decreased as the IBA dose increased in the above-node cutting of the cutting

base compared to the control group. In the under-node cutting of the cutting base, the highest survival rate was obtained from 2000 ppm IBA (95%) application. The highest rooting percentage was obtained from under the node 2000 ppm IBA (68%), and the lowest rooting was obtained from under the node control group and above the node 4000 ppm IBA (20%) applications. The percentage of rooting decreased as the IBA dose increased compared to the control group (65%). The highest blooming rate was obtained from above the node control group (75%), and the lowest blooming was obtained from under the node 4000 ppm IBA (21%) application (Table 1; Figure 3). The high temperatures in the rooting medium can be said to be the reason for the flowering seen in the cuttings (Figure 2).

Table 1. Average rooting and vegetative growth data as a result of two different base cutting IBA concentrations applied to stem cuttings of *S. compacta*.

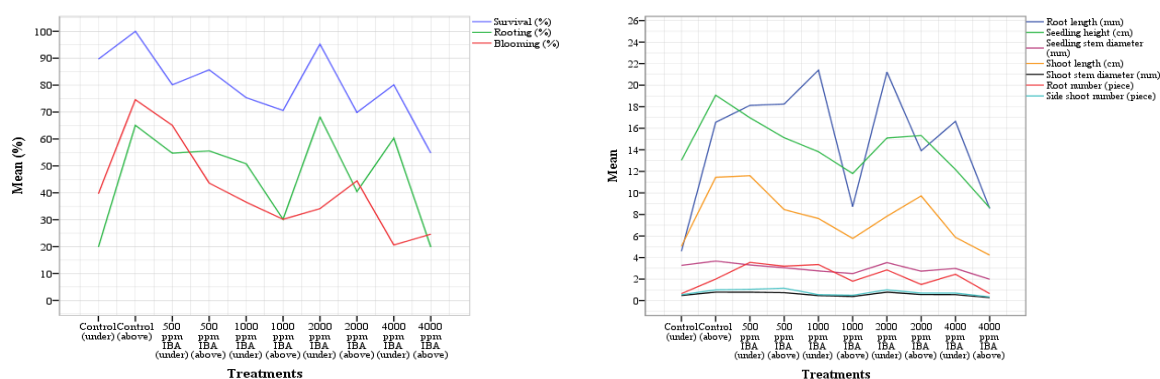
Treatments	SR*	RP*	BR*	RN**	RL*	SH*	SESD*	SSN*	SL**	SHSD**
Control (above)	100 ^a	65 ^{ab}	75 ^a	2.0	16.6 ^{ab}	19.1 ^a	3.7 ^a	1.0 ^{ab}	11.5	0.8
500 ppm (above)	86 ^a	56 ^{ab}	44 ^{ab}	3.2	18.3 ^{ab}	15.1 ^{ab}	3.1 ^{ab}	1.2 ^a	8.5	0.7
1000 ppm (above)	71 ^{ab}	30 ^{ab}	30 ^{ab}	1.8	8.7 ^{ab}	11.8 ^{ab}	2.5 ^{ab}	0.5 ^{ab}	5.8	0.4
2000 ppm (above)	70 ^{ab}	40 ^{ab}	44 ^{ab}	1.5	13.9 ^{ab}	15.3 ^{ab}	2.7 ^{ab}	0.7 ^{ab}	9.7	0.6
4000 ppm (above)	55 ^b	20 ^b	25 ^{ab}	0.7	8.5 ^{ab}	8.6 ^b	2.0 ^b	0.4 ^b	4.2	0.3
Control (under)	90 ^a	20 ^b	40 ^{ab}	0.7	4.6 ^b	13.0 ^{ab}	3.3 ^{ab}	0.6 ^{ab}	5.1	0.5
500 ppm (under)	80 ^{ab}	55 ^{ab}	65 ^{ab}	3.6	18.1 ^{ab}	17.0 ^{ab}	3.3 ^{ab}	1.1 ^{ab}	11.6	0.8
1000 ppm (under)	75 ^{ab}	51 ^{ab}	37 ^{ab}	3.4	21.4 ^{ab}	13.8 ^{ab}	2.8 ^{ab}	0.6 ^{ab}	7.6	0.5
2000 ppm (under)	95 ^a	68 ^a	34 ^{ab}	2.9	21.2 ^a	15.1 ^{ab}	3.5 ^{ab}	1.0 ^{ab}	7.8	0.8
4000 ppm (under)	80 ^{ab}	60 ^{ab}	21 ^b	2.5	16.7 ^{ab}	12.2 ^{ab}	3.0 ^{ab}	0.7 ^{ab}	5.9	0.6

*The difference between the values with different letters is significant according to the Tukey's HSD test at $p < 0.05$. **The difference between the values with the same letter is not significant according to the Tukey's HSD test at $p > 0.05$. SR=survival rate (%), RP=rooting percentage (%), BR=blooming rate (%), RN=root number (piece), RL=root length (mm), SH=seedling height (cm), SESD=seedling stem diameter (mm), SSN=side shoot number (piece), SL=shoot length (cm), SHSD=shoot stem diameter (mm).

The average maximum root length was obtained from under the node 1000 ppm IBA (21.4 mm), while the lowest root length was obtained from under the node control group (4.6 mm) applications. The average longest seedling height and seedling stem diameter was obtained from above the node control group (19.1 cm; 3.7 mm), while the lowest seedling height and seedling stem diameter was obtained from above the node 4000 ppm IBA (8.6 cm; 2.0 mm) applications, respectively. Likewise, the average maximum number of side shoots was obtained from above the node 500 ppm IBA (1.2 piece/cutting) and the least from above the node 4000 ppm IBA (0.4

units/steel) applications (Table 1; Figure 3).

The average maximum number of primary roots was obtained from under the node 500 ppm IBA (3.6 piece/cutting), while the lowest number of primary roots was obtained from under the node control group (0.7 piece/cutting) and above the node 4000 ppm IBA (0.7 piece/cutting) applications. The average longest shoot length and shoot stem diameter was obtained from under the node 500 ppm IBA (11.6 cm; 0.8 mm), while the lowest shoot length and shoot stem diameter was obtained from above the node 4000 ppm IBA (4.2 cm; 0.3 mm) applications, respectively (Table 1; Figure 3).



No study was found on the vegetative propagation of *S. compacta*. In this respect, In rooting *Silene fabaria* subsp *domokina* with cuttings, optimum rooting (100%) was achieved with 20.75 roots of 4.84 cm length with 1000 ppm

IBA (Sarropoulou et al., 2018). In rooting *Silene chalcedonica* with cuttings, the highest rooting rate (54.93%) and average number of roots (4,044) were obtained from the application of 1% IBA and 0.5% NAA (Jiang et al., 2016). On the other hand, it

has been compared with rooting studies on other species. Different concentrations of IBA applications had different effects on the rooting success of black and white myrtle (*Myrtus communis* L.). The highest rooting percentage (76.67%) in black myrtle was obtained from cuttings applied 1000 mg L⁻¹ IBA. In white myrtle, the highest rooting percentage (43.33%), shoot percentage (43.33%), rooted-shooted rates (43.33%) and average root number (1.63 pcs) were obtained from 500 mg L⁻¹ IBA dose (Alim and Kaya, 2023). The highest rooting success of *Sterculia foetida* cuttings and the survival rate of rooted cuttings were seen in cuttings treated with 0.8% IBA. The sprouting success of rooted cuttings was obtained from cuttings treated with 0.4% IBA. Also, the cutting type (leaf/leafless) of the cuttings had no effect on rooting and sprouting success and overall survival (Azad *et al.*, 2018). In a study on the rooting of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.), the most suitable cutting type was determined as

the semi-woody cutting and the most suitable IBA dose was 8000 ppm (Cicek and Ozel, 2021). IBA concentrations did not affect the rooting percentage of 'Otto' azalea (*Rhododendron simsii* Planch.) cultivars. However, 2000 mg L⁻¹ IBA application had a positive effect on root number, mean and total length, dry matter, surface area and volume (Dias Bezerra *et al.*, 2020). In a study on the rooting sandy thyme (*Thymus revolutus* Celak), the highest rooting rate was determined with 88,33% in cuttings that were applied 500 ppm IBA and rooted in torf+perlite (1:1 by volume) (Kosa, 2021). Maximum rooting, root number and root length were obtained from the application of 3000 mg L⁻¹ IBA concentration in pomegranate cuttings (Adiba *et al.*, 2022). The highest rooting rate (88.00%) in goji berry was obtained from cuttings applied with 1000 ppm IBA (Celik and Cetin, 2021). According to these studies, the results of our study are similar and even have higher rooting values than some studies.



Figure 4. Stem cuttings planted (a) in rooting medium and cuttings rooted (b) at the end of the experiment.

Conclusion

Above-under the node point of the cutting base cuts and applied IBA doses were effective in the reproduction of *S. compacta* with stem cuttings. The average highest rooting percentage was obtained from the experiment made from above the node of the base cutting of the cuttings and no IBA applied. Likewise, the highest rooting percentage was obtained from the 2000 ppm IBA concentration in the experiment, which was carried out under the node at the base cuts. The

highest survival rate in cuttings was obtained from above-node control group (100%) and under-node 2000 ppm IBA (95%) application, and the highest rooting percentage was obtained from under-node 2000 ppm IBA (68%) and above-node control group (65%), respectively. The results of this study showed that *S. compacta* can be easily reproduced vegetatively by stem cuttings.

Conflict of interest: The author declare that he has no conflict of interest.

Author contributions: M.A: Conducting the research and writing the results were done by the author.

References

- Adiba, A., Haddioui, A., Outghouliast, H., Hamdani, A., Mekaoui, A., & Charafi, J. (2022). Evaluation of cuttings ability of eighteen pomegranate cultivars from an ex-situ collection under influence of stem age and IBA treatment. *Scientia Horticulturae*, 304, 111281. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111281>
- Alim, E., & Kaya, A. S. (2023). Effect of different concentrations of IBA and time of taking cutting on propagation of black and white myrtle (*Myrtus communis* L.) cuttings. *Horticultural Studies*, 40(1), 8-15. <http://doi.org/10.16882/HortiS.1233002>
- Alp, Ş., Zeybekoğlu, E., Salman, A., Özzambak, M. E., (2020). The development and cultivation of wild plants and using as ornamental plant. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludag University*, 34(Special Issue), 351-357.
- Azad, M. S., Alam, M. D., Mollick, A. S., & Islam Khan, M. N. (2018). Rooting of cuttings of the wild Indian almond tree (*Sterculia foetida*) enhanced by the application of indole-3-butyric acid (IBA) under leafy and non-leafy conditions. *Rhizosphere*, 5, 8-15. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.11.001>
- Cassol, D. A., Dotto, M., Pirola, K., & Júnior, M. W. (2017). Behavior of piles and indol butyric or homeopathic prepared acid *Arnica montana* spread of false-erica. *Ornamental Horticulture*, 23(2), 138-143. <http://dx.doi.org/10.14295/oh.v23i2.945>
- Celik, H., & Cetin, F. (2021). Effect of cutting time and IBA application on the rooting of Goji Berry cuttings. *Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Science*, 31(2), 294-304.
- Cicek, E., & Ozel, A. (2021). Determination of suitable cutting type and IBA dose for seedling production in lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). *Harran Journal of Agricultural and Food Science*, 25(2), 254-264. doi:10.29050/harranziraat.827325
- Coode, M. J. E., & Cullen, J. (1967). *Silene* L. In: Davis, P. H., Cullen, J. & Coode, M. J. E. (Eds). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University, Edinburgh, UK. 2, 179-243.
- Costa Junior, E. D. S., De Melo Barbosa, M. S., Da Silva, C. M. A., Da Silva, R. C. S., Piedade Kiill, L. H. & Beckmann-Cavalcante, M. Z. (2018). Vegetative propagation of *Rhaphiodon echinus* Schauer (*Lamiaceae*): effects of the period of cutting in rooting, cuttings arrangement and IBA concentrations for seedlings production. *Ornamental Horticulture*, 24(3), 238-247. <http://dx.doi.org/10.14295/oh.v24i3.1232>
- De Souza, R. R., & Beckmann-Cavalcante, M. Z. (2022). Conservation and use of biodiversity. *Ornamental Horticulture*, 28(4), 385-386. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v28i3.2561>
- Dias Bezerra, A. K., Ferraz, M. V., Lopes Pivetta, K. F., Nogueira, M. R., & Mazzini-Guedes, R. B. (2020). Rooting of azalea cuttings of Otto and Terra Nova cultivars treated with auxin and boron. *Ornamental Horticulture*, 26(1), 77-88. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v26i1.2041>
- Draghia, L., & Chelariu Zaharia, E. L. (2011). Aspects regarding the production of planting material at some ornamental species from spontaneous flora. *Bulletin UASVM Agriculture*, 68(1), 332-337.
- Eggens, F., Jafari, F., Tholleson, M., Cramer, S., Zarre, S., & Oxelman, B. (2020). Phylogeny and species delimitation in *Silene* sect. *Arenosae* (*Caryophyllaceae*): A new section. *PhytoKeys*, 159, 1-34. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.159.51500>
- Ferreira, V., Castro, I., Rocha, J., Crespí, A. L., Pinto-Carnide, O., Amich, F., Almeida, R., & Carnide, V. (2015). Chloroplast and nuclear DNA studies in Iberian Peninsula endemic *Silene scabriflora* subspecies using cpSSR and ISSR markers: Genetic diversity and phylogenetic relationships. *Biochemical Systematics and Ecology*, 61, 312-318. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2015.06.029>
- Guner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., & Babac, M. T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). *Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği, Flora Dizisi*, İstanbul.
- Jafari, F., Zarre, S., Gholipour, A., Eggens, F., Rabeler, R. K., & Oxelman, B. (2020). A new taxonomic backbone for the infrageneric classification of the species-rich genus *Silene* (*Caryophyllaceae*). *Taxon*, 69(2), 337-368. <https://doi.org/10.1002/tax.12230>
- Jiang, L., Dunn, B. L., Wang, Y., & Goad, C. L. (2016). Responses to Propagation Substrate and Rooting Hormone Products to Facilitate Asexual Propagation of *Silene chalcidonica* and *Silene coronaria*. *J. Environ. Hort.*, 34(3), 80-83.
- Kosa, S. (2021). Determination of the effects of growing media and IBA concentrations on rooting of hard wood cuttings of the *Thymus revolutus* Celak. *Journal of Bartın Faculty of Forestry*, 23(2), 595-605. doi:10.24011/barofd.931944
- Kosa, S., & Karaguzel, O. (2020). Effects of seed age, germination temperature, gibberellic acid and stratification on germination of *Silene compacta*. *Pakistan Journal of Botany*, 52(3), 901-908. [https://doi.org/10.30848/PJB2020-3\(18\)](https://doi.org/10.30848/PJB2020-3(18))
- Moilola, N. A., Mesbah, M., Nylinder, S., Manning, J., Forest, F., De Boer, H. J., Bacon, C. D., & Oxelman, B. (2021). Biogeographic origins of southern African *Silene* (*Caryophyllaceae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 162, 107199. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2021.107199>
- Pacholczak, A., & Żatkiewicz, A. (2022). The interaction of brassinosteroids and indole-3-butyric acid (IBA) in rooting of stem cuttings in ninebark (*Physocarpus opulifolius* (L.) Maxim.). *Propagation of Ornamental Plants*, 22(1), 3-10.
- Pêgo, R. G., Andrade Fiorini, C. V., Lopes Machado, A. F., & Silva Gomes, M. V. (2019). Propagation of *Streptosolen jamesonii* (Benth.) Miers by stem cutting treated with IBA in different substrates. *Ornamental Horticulture*, 25(1), 26-33. <http://dx.doi.org/10.14295/oh.v25i1.1184>
- Sarropoulou, V., Krigas, N., Grigoriadou, K., Tsoktouridis, G., & Maloupa, E. (2018). Vegetative propagation of the

- range-restricted Greek endemic *Silene fabaria* (L.) Sm. in Sibth. & Sm. subsp. *domokina* Greuter (Caryophyllaceae). *International Journal of Botany Studies*, 5(3), 37-40.
- Singh, B., Rawat, J. S., Gusain, Y. S., Khanduri, V. P., Riyal, M. K., & Kumar, P. (2021). Shoot position, cutting types and auxin treatments influence rooting response on *Tecoma stans*. *Ornamental Horticulture*, 27(2), 213-220. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v27i2.2262>
- Solgi, M., Taghizadeh, M., & Bagheri, H., (2022). Response of black mulberry onto white mulberry rootstock to stenting (cutting-grafting) techniques and IBA concentrations. *Ornamental Horticulture*, 28(1), 78-84. <https://doi.org/10.1590/2447-536X.v28i1.2413>
- SPSS. (2013). IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, N.Y.
- Villa, F., Piva, A. L., Mezzalana, E. J., & Santin, A. (2017). Cuttings in propagation of gooseberry. *Magistra*, 28(2), 185-193.
- Wei, Z., Van Le, Q., Peng, W., Yang, Y., Yang, H., Gu, H., Lam, S. S., & Sonne, C., (2021). A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil. *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123658. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123658>
- West, R. M. (2022). Best practice in statistics: The use of log transformation. *Annals of Clinical Biochemistry*, 59(3), 162-165. doi: 10.1177/00045632211050531
- Xie, M., Jiang, Y., Xu, K., Guo, W., & Yuan, T. (2023). Strangulation and IBA treatments as an effective method to propagate tree peonies, *Paeonia suffruticosa*. *Scientia Horticulturae*, 307, 111487. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111487>



Insecticidal effects of wood vinegars produced from organic wastes on harmful almond leaf bee *Cimbex quadrimaculata* (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae)

Organik atıklardan üretilmiş odun sirkelerinin zararlı badem yaprak arısı *Cimbex quadrimaculata* (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae)'na insektisidal etkileri

İbrahim KOÇ^{1*} İnanç ÖZGEN² Aykut TOPDEMİR³ Yunus GÜRAL⁴

¹Mardin Artuklu University, Vocational School of Health Services, Mardin, Türkiye

²⁻³Firat University, Engineering Faculty, Department of Bioengineering, Elazığ, Türkiye

⁴ Firat University, Faculty of Science, Division of Statistics, Elazığ, Turkey

¹ <https://orcid.org/0000-0003-0803-6801>; ²<https://orcid.org/0000-0003-1742-9324>; ³<https://orcid.org/0000-0002-9112-4767>; ⁴<https://orcid.org/0000-0002-0572-453X>

To cite this article:

Koç, İ., Özgen, İ., Topdemir, A. & Güral, Y. (2024). Insecticidal effects of wood vinegars produced from organic wastes on harmful almond leaf bee *Cimbex quadrimaculata* (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae). Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 19-28

DOI: 10.29050/harranziraat.1310493

*Address for Correspondence:

İbrahim KOÇ

e-mail:

ibrahimkoc@artuklu.edu.tr

Received Date:

06.06.2023

Accepted Date:

28.12.2023

ABSTRACT

In agricultural activities, there is an increasing need for organic products as alternatives to chemical pesticides. Wood vinegar (WV, pyrolysis liquid) from these alternative potential products is produced as a result of the carbonization process in which it is obtained from organic wastes together with useful products such as energy and biochar. This study was carried out to determine the insecticidal effects of WVs produced from broiler chicken litter and nutshells on the harmful almond leaf wasp *Cimbex quadrimaculata* Müller, 1766 (Hymenoptera: Cimbicidae). The study was carried out in an almond orchard in Diyarbakır (Eğil district) and Elazığ (Keban district) in the 2019-2021 production seasons. WV mixed solutions (1%, 3%, 5%, 7%, 10% and 25%) were applied with a back sprayer at the beginning and end of leafing in contaminated almond orchards. The effects of the applications were determined by impact and visual control methods on the 1st, 7th, 14th and 21st. In the analysis of the obtained data, first of all, normality test was performed. In the analysis of the obtained data, the Kruskal-Wallis test was applied. In conclusion; It has been determined that WV-added solutions have a insecticidal effect against harmful almond leaf bees, and the highest decrease in the number of larvae occurs at doses of 10% to 25%. It is important to test these vinegars in different locations with more detailed studies and to conduct detailed bioecological studies depending on the climatic factors and population ecology of the pest in terms of alternative control of the pest. The data of this study contain basic data for almond integrated pest management (IPM) studies.

Key Words: Alternative control, Almond, *Cimbex quadrimaculata*, Insecticidal effect, Wood vinegar (pyrolysis liquid)

ÖZ

Tarımsal faaliyetlerde, kullanılan kimyasal pestisitlere alternatif organik ürünlere gün geçtikçe daha çok gereksinim duyulmaktadır. Bu alternatif potansiyelli ürünlerden odun sirkesi (OS, piroliz sıvı), organik atıklardan enerji ve Biyokömür (Biochar) gibi faydalı ürünlerle birlikte elde edildiği karbonizasyon işlemi sonucunda üretilmektedir. Bu çalışma, Broiler (etçil) tavuk yetiştiriciliği altlığı ve fındıkkabuklarından üretilmiş OS'ların zararlı badem yaprak arısı *Cimbex quadrimaculata* (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae)'na insektisidal etkilerini belirleme amacı ile yapılmıştır. Çalışma, Diyarbakır (Eğil ilçesi) ve Elâzığ (Keban ilçesi) illerinde bulunan birer badem alanında 2019-2021 üretim sezonlarında yürütülmüştür. OS karışımli solüsyonlar (%1, 3, 5, 7, 10 ve 25), bulaşıklı badem bahçelerinde



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

yapraklanma başı ve sonunda sırt pülverizatörü ile uygulanmış ve uygulamaların etkileri 1.,

7., 14. ve 21. günlerde darbe ve gözle kontrol yöntemleri ile belirlenmiştir. Elde edilen verilerin analizinde, Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Sonuç olarak; OS katkılı solüsyonların zararlı badem yaprak arısına karşı insektisidal etki gösterdiği ve larva sayısında ise en fazla düşüşün %10 ile %25'lik dozlarda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu sirkelerin daha detaylı çalışmalarla farklı lokasyonlarda denenmesi, iklimsel faktörler ve zararlının populasyon ekolojisine bağlı olarak detaylı biyoeolojik çalışmaların yapılması zararlı ile alternatif mücadele açısından önemlidir. Bu çalışmanın verileri, badem entegre zararlı yönetimi (IPM) çalışmaları için temel veriler içermektedir.

Anahtar Kelimeler: Alternatif kontrol, Badem, *Cimbex quadrimaculata*, Insektisidal etki, Odun sirkesi (piroliz sıvı)

Introduction

Almond, (*Prunus dulcis* L.), is a source of magnesium, riboflavin, manganese, copper, phosphorus, fiber, mono-unsaturated fatty acids, nutrient-dense vitamin E and protein (Chen et al., 2006). The countries producing almonds in the world are USA, Spain, Iran and Morocco, respectively (Şimşek and Gülsoy, 2017). Although commercial almond cultivation has increased significantly in Turkey, economic losses occur due to pests such as *Cimbex quadrimaculata* Müller, 1766 (Hymenoptera: Cimbicidae). It was determined that the pest is among the dominant species with a rate of 51% in the almond fields of Diyarbakır, Elazığ and Mardin provinces (Bolu et al. 2005). Studies about the population and population dynamics of the pest which causes damage to cherries, apricots, peaches, and pears apart from almonds, and how to control it in terms of organic agriculture (Çakıcı et al., 2015) are not enough in number. In the light of current information, there is no effective application in the control against pests and the information about the current situation of their natural enemies is quite limited (Özgen et al., 2010; Özbek, 2014). Farmers generally prefer the chemical warfare method to solve plant protection problems, and unconscious pesticide applications bring about much negativity in terms of human and environmental health (Kaplan and Saltuk, 2021). Synthetic insecticides used in the fight against pests are applied indiscriminately and these applications negatively affect non-target organisms in the agro-ecosystem and the environment. Because of this situation, alternative methods are used in the fight against pests. It has been stated that different doses of azadirachtin, a plant-derived preparation, could reduce the harmful effects or limit the use of chemical methods in the fight against some agricultural pests (Kaplan, 2019; Aşkın et al., 2022)

Among these methods, it was determined that wood vinegar (WV, pyrolysis liquid), which is an organic product that is still used for various purposes today, application was used for plant protection in the past (Tiilikkala et al., 2010). WV is a liquid by-product obtained by the condensation of the steam formed during the production of charcoal and the carbonization of plant and animal wastes. WV is effective on a number of pests in agricultural areas (Yatagai et al., 2002; Wititsiri, 2011; Pangnakorn et al., 2012; Hagner, 2013; Oramahi and Yoshimura, 2013; Yamauchi and Matsumoto, 2016; Omulo et al., 2017; Adfa et al., 2017; Özgen et al., 2018; Oramahi et al., 2018; Koç and Yardım, 2018; Koç, 2019; Koç, 2020). There are some scientific studies that show that the negative effects on non-target organisms are not at a level to worry about (Cai et al., 2012; Hagner, 2013; Rui et al., 2014; Koc et al., 2018; Koç et al., 2019; Koç and Yardım, 2019). Parameters include WV (Tiilikkala et al., 2010), the type of raw material used and carbonization temperature, which have the potential to replace synthetic pesticides, and their content and effects change. Wood vinegars (BCLWV and NWV) produced from broiler chicken litter and hazelnut shells have been used in various scientific studies both in the laboratory and in the wheat agro-ecosystem (Koç and Yardım, 2018; Özgen et al., 2018; Koç, 2020). The effects on harmful almond leaf bees have not been investigated. In this context, it is crucial to find an alternative way to combat this pest, which causes damage to cherries, apricots, peaches and pears as well as almond fields. In this study, the insecticidal effects of different doses of BCLWV and NWV on the harmful almond leaf bee *Cimbex quadrimaculata* Müller, 1766 (Hymenoptera:

Cimbicidae), which causes significant losses in almond fields, were investigated.

Material and Methods

This study was carried out in one almond field each in Diyarbakır (Eğil district) and Elazığ (Keban district) in the 2019-2020 and 2020-2021 production season (Figure 1-2).



Figure 1. Preparation of WV supplemented solutions



Figure 2. Field study



Figure 3. *C. quadrimaculata* larvae

WV's used in the study; broiler chicken breeding litter and nutshell raw materials (BCLWV and NWV) were obtained from a commercial company obtained by gasification machine (Namlı et al. 2014). Back sprayer assistance (Hyundai Turbo 300 Gasoline Atomizer, 14 Lt, Blown Sprayer HIM.) (Figure 1-2) and at doses of 1%, 3%, 5%, 7%, 10% and 25%. Each dose of WV was applied to five trees and the effects were examined with impact and visual control methods on the 1st, 7th, 14th and 21st days of the applications. The population change of the pest was determined by the counts of 5 randomly selected wild almonds (*Prunus dulcis*) and grafted cultivated almond tree (*Prunus amygdali*) (ferragnez variety) in orchards in each trial orchard. The larvae that fell on the Japanese umbrella were counted by blowing on four different sides of the sample trees, and after counting, they were left to the sample tree again. The average height and crown projections of wild and grafted almond trees are 3.5 m / 2 m and 2.5 m / 1.5 m, respectively. In the statistical analysis of the obtained data, Kolmogorov Smirnov test was

applied primarily to determine whether it showed a normal distribution. As a result of this test, Kruskal-Wallis test, which is one of the non-parametric tests, was applied since the assumption of normality was not provided. The p value < 0.05 was considered for statistical significance.

Results and Discussion

As regards Keban district, it can be seen in Figure 4 that all doses were effective in reducing the number of *C. quadrimaculata* by 25%, 10%, 7%, 5% and 1%, respectively, compared to the control group in the applications applied with BCLWV during the leafing period. Although it has been observed that the population change fluctuation in control applications is different compared to other dose parameters, there are no statistical differences (Table 1). It was determined that as the dose increased, the vinegar material used was more effective on the population change of the *C. quadrimaculata*.

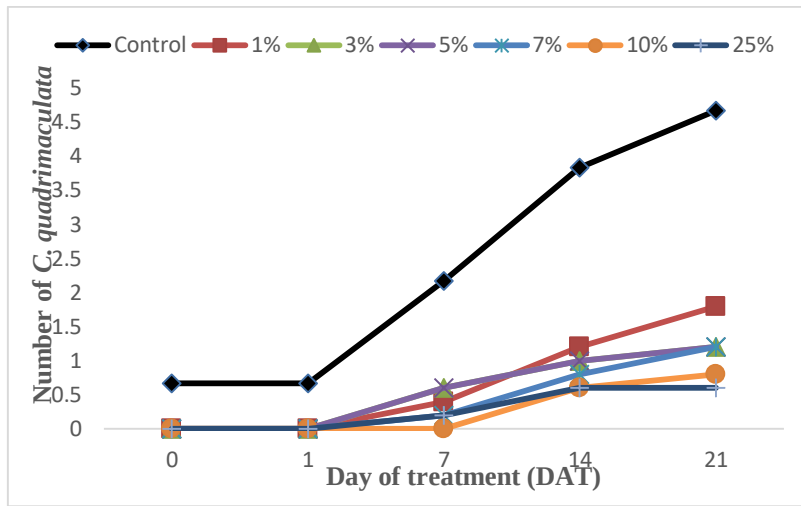


Figure 4. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on the time of the onset of foliation in Keban district where BCLWV was applied

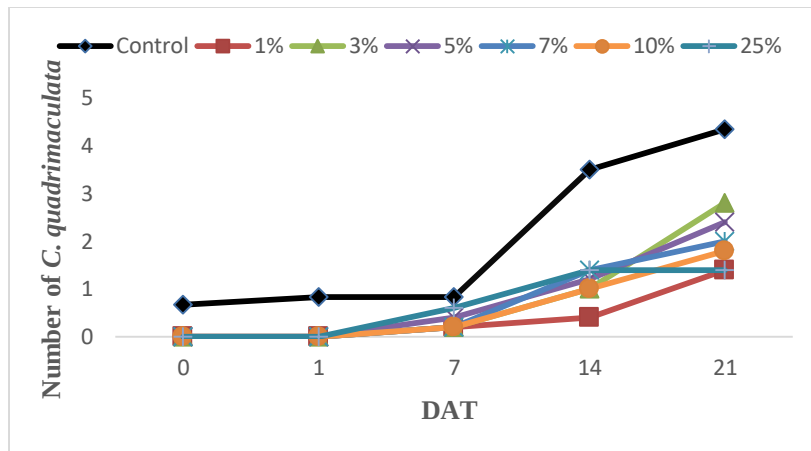


Figure 5. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on the time of the onset of foliation in Keban district in which NWV was applied

It was found that all doses were effective on the pest, compared to the control group, in the application of NWV treated start of foliation period in Keban district. In terms of reducing the number

of pests, it was determined that the percentages were 25%, 1%, 10%, 7%, 5%, and 3%, respectively (Figure 5).

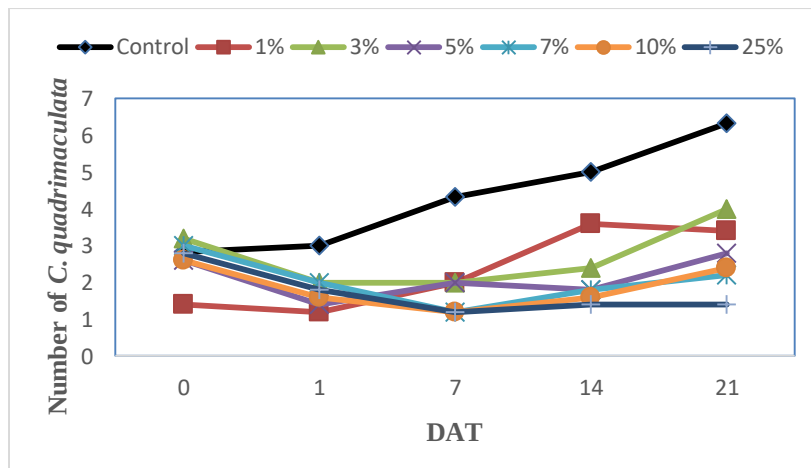


Figure 6. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on the time at the end of foliation in Keban district where BCLWV was applied

It was found that all doses were effective on the pest compared to the control group in the BCLWV treated end-of-foliation application in Keban

district. In terms of reducing the number of pests, it was determined as 25%, 7%, 10%, 5%, 1% and 3%, respectively (Figure 6).

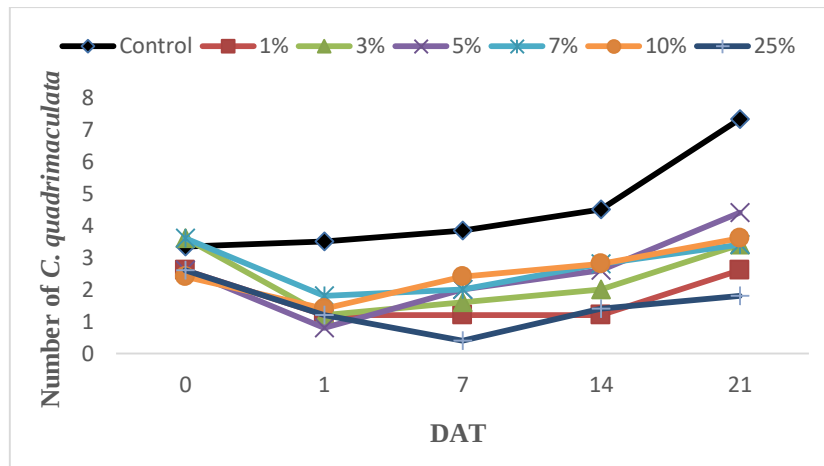


Figure 7. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on time after NWV applied in Keban district.

It was observed that all doses were effective on the pest compared to the control group in the NWV treated and-foliation application in Keban

district. In terms of reducing the number of pests, they were found to be 25%, 1%, 3%, 7%, 10% and 5%, respectively (Figure 7).

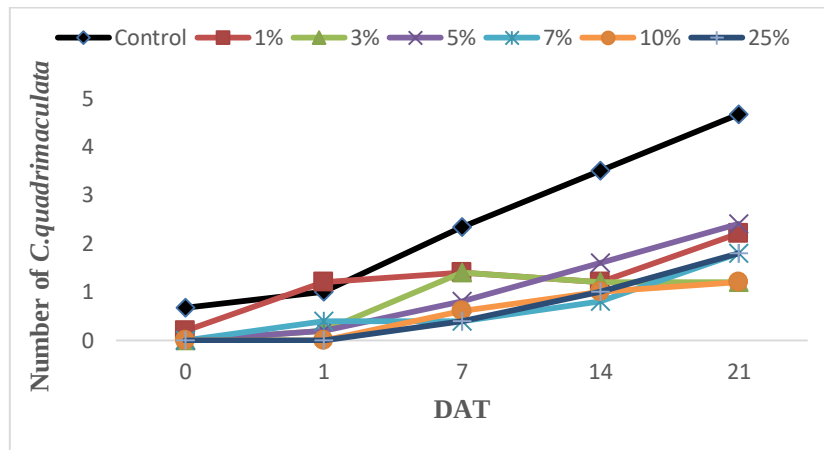


Figure 8. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on time per foliation applied to BCLWV in Eğil district

In the application of BCLWV treated foliage head in Eğil district, it was determined that all doses were effective on the pest compared to the

control group. In terms of reducing the number of pests, they were recorded as 10%, 3%, 25%, 7%, 1% and 5%, respectively (Figure 8).

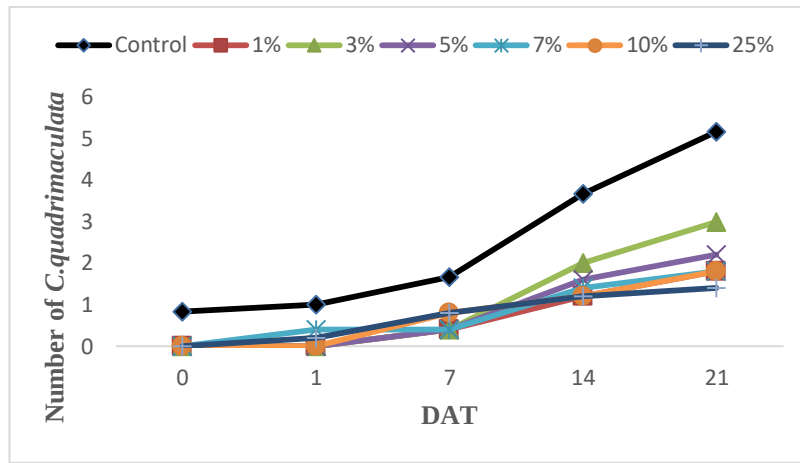


Figure 9. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on time per foliation applied to NWV in Eğil district.

In the application of NWV treated foliage head in Eğil district, all doses were found to be effective on the pest compared to the control group. In terms of reducing the number of pests, they were found to be 25%, 10%-7%, 5% and 3%, respectively (Figure 9).

It was determined that all doses were effective on the pest compared to the control group in BCLWV treated end-foliation application in Eğil district. In terms of reducing the number of pests, they were as 25%, 10%, 7%-1%, 5% and 3%, respectively (Figure 10).

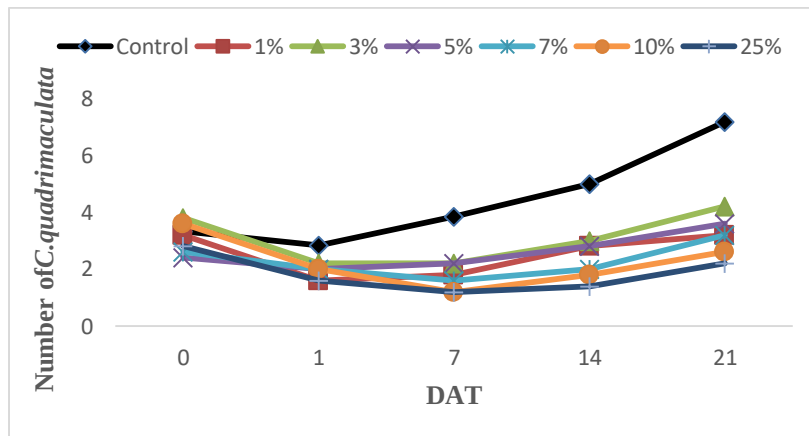


Figure 10. Change in the number of *C. quadrimaculata* depending on the end of foliation in Eğil district after BCLWV applied

It was observed that all doses were effective on the pest compared to the control group in the NWV treated end-foliation application in Eğil

district. In terms of reducing the number of pests, they were found to be 3%, 25%, 1%, 7%, 10% and 5%, respectively (Figure 11).

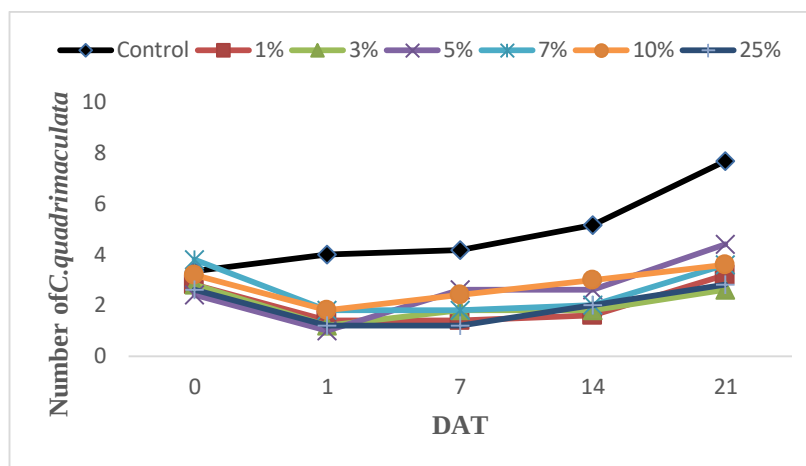


Figure 11. The change in the number of *C. quadrimaculata* depending on the time at the end of foliation in Eğil district where NWV was applied

According to Kruskal Wallis test, there was a statistically significant difference between the groups as the P value is <0.05 in the end of foliation treatments for BCLWV and NWV treatments in Keban district. Similarly, there was a statistically significant difference between the groups as the p value was <0.05 in the post-foliation treatments for BCLWV and NWV treatments in Eğil district (Table 1). When the Kruskal Wallis test pairwise comparison results were examined, there is a 25%

difference between the control groups and the control groups at the end of foliation in Keban district BCLWV application, in Keban district NWV application at the end of foliation, in Eğil district at the end of foliation in BCLWV application and in Eğil district at the end of foliation (Table 1). Moreover; there was also a difference between the control group and the 1% group at the end of foliation of NWV application in Keban district (Table 1).

Table 1. Determining the differences between dosing and control averages using the Kruskal-Wallis Test

Applications	Group	Mean	Mean Rank	SD	p	Pairwise Comparisons
Keban district BCLWV application foliation start	Control	2.70	29.80	1.94	0.138	
	1%	0.68	18.30	0.79		
	3%	0.56	17.80	0.55		
	5%	0.56	17.80	0.55		
	7%	0.44	16.30	0.53		
	10%	0.28	12.70	0.38		
	25%	0.28	13.30	0.30		
Keban district NWV application foliation start	Control	2.03	26.40	1.74	0.620	
	1%	0.40	14.50	0.58		
	3%	0.80	16.80	1.19		
	5%	0.80	17.50	1.01		
	7%	0.72	17.20	0.92		
	10%	0.60	16.20	0.78		
	25%	0.68	17.40	0.70		
Keban district BCLWV application foliation end	Control	4.30	31.10	1.45	0.032	There is a difference between the control group and the 25% group.
	1%	2.32	17.20	1.11		
	3%	2.72	22.70	0.86		
	5%	2.12	16.30	0.57		
	7%	2.04	15.40	0.65		
	10%	1.88	12.90	0.59		
	25%	1.72	10.40	0.64		
Keban district NWV application end of foliation	Control	4.50	30.80	1.64	0.025	There is a difference between the control group and the 1% and 25% group.
	1%	1.76	11.00	0.76		
	3%	2.36	17.10	1.08		
	5%	2.48	17.80	1.30		
	7%	2.72	21.10	0.80		
	10%	2.52	19.00	0.79		

	25%	1.48	9.20	0.80		
Eğil district BCLWV application foliation start	Control	2.43	27.00	1.68	0.268	
	1%	1.24	22.50	0.71		
	3%	0.80	17.10	0.64		
	5%	1.00	18.10	1.00		
	7%	0.68	14.80	0.68		
	10%	0.56	12.80	0.55		
	25%	0.64	13.70	0.76		
Eğil district NWV application foliation start	Control	2.46	27.00	1.88	0.568	
	1%	0.68	15.20	0.79		
	3%	1.08	17.80	1.35		
	5%	0.84	16.60	1.00		
	7%	0.80	17.40	0.76		
	10%	0.76	15.90	0.77		
	25%	0.72	16.10	0.60		
Eğil district BCLWV application foliation end	Control	4.43	30.40	1.72	0.026	There is a difference between the control group and the 25% group.
	1%	2.52	17.10	0.76		
	3%	3.08	23.40	0.91		
	5%	2.60	18.50	0.63		
	7%	2.28	14.10	0.62		
	10%	2.24	13.50	0.90		
	25%	1.84	9.00	0.65		
Eğil district NWV application foliation end	Control	4.86	31.80	1.69	0.033	There is a difference between the control group and the 25% group.
	1%	2.08	13.10	0.85		
	3%	2.04	12.70	0.65		
	5%	2.60	17.30	1.20		
	7%	2.60	18.40	1.00		
	10%	2.80	20.70	0.70		
	25%	1.96	12.00	0.75		

It was determined that all dose applications of the vinegars (BCLWV and NWV) used were effective in reducing the harmful almond leaf bee, *C. quadrimaculata*, population in both locations in current study. With this situation, it was determined that the effect increased with the increasing dose rate (Pangnakorn et al., 2012) and especially 10% to 25% dose applications reduced the number of eggs laid by the pest. Findings from this study of Yatagai et al. (2002) showed that WVs produced from different raw materials have high termiticide activity against *Reticulitermes speratus*. A similar finding that WV produced from coconut waste has a pesticidal effect was observed by Wititsiri (2011). Pangnakorn et al. (2012) stated that the OS they used in laboratory conditions (10, 15, 20, 25 and 30 doses) and the larval mortality rate of houseflies (*Musca domestica* L.) increased with increasing WV concentration and exposure time. Hagner (2013) reported that WV against molluscs provides strong evidence of its potential to be an effective, inexpensive and environmentally friendly method. Oramahi and

Yoshimura (2013) revealed that three types of WV produced from *Vitex pubescens* at three different pyrolysis temperatures (350, 400 and 450 °C) showed antitermite activity against both *Reticulitermes speratus* and *Coptotermes formosanus*. Yamauchi and Matsumoto (2016) reported that some components of WV on red mites may cause death by inhaling through the stigma and peritreme in the red mite body. Adfa et al. (2017) revealed that WV has strong termiticidal effect on *Coptotermes curvignathus*. Ozgen et al. (2018) determined that WVs produced from hazelnut shells and broiler chicken litter against *Tribolium confusum* du Val., 1863 showed a certain amount of insecticidal activity, but did not cause a great deal of mortality. Oramahi et al. (2018) reported that WVs produced from palm trunks (350, 400 and 450 °C) exhibit antitermite activity against *C. formosanus* workers. Koç and Yardim (2018) reported that the WV they used affects the average number of arthropods on the cultivated plant. Koç (2019) revealed that 100% dose of WV treatments on California red worm (*Eisenia*

foetida) in vermicompost medium under in-vitro conditions had a toxic effect and WV had bio-pesticide potential. In another study, which is in line with the findings, Koç (2020) reported that WV produced from hazelnut shells caused a decrease in the average Opilionid (grass cutter) number and an increase in the average Arachnid number. The findings are thought to have a repellent and biocidal effect due to the content of WV (such as acetic acid, phenol) (Yatagai et al., 2002), the smell of vinegar and the residue left in the plant.

Conclusion

In conclusion; It has been determined that both BCLWV and NWV applications have a insecticidal effect against the harmful almond *Cimbex quadrimaculata*, and the highest decrease in the number of larvae occurs at 10% and 25% concentrations. The effective results of vinegars, which are pyrolysis products, will provide very important agricultural control gains for organic almond cultivation in the region. As a suggestion; the pest population should be carefully monitored between May and June, the pest creates a high population in newly established gardens and its control is important in these gardens of the pest; It has been concluded that the continuous monitoring of natural enemy biodiversity, and the use of organic-based compounds instead of synthetic chemicals in the control, will be an appropriate approach for environmentalist and organic agriculture.

Acknowledgments

This study was carried out within the scope of the project titled "Research on the Development of Alternative Methods Using 8 Vegetal Origin Insecticides, Kaolin and Wood Vinegar Varieties Against *Cimbex quadrimaculata* (Müller, 1766) (Hymenoptera: Cimbicidae)" in almond fields in Diyarbakır and Elazığ Provinces. We would like to thank the TÜBİTAK project no. 118O124, the program project orientation and reporter team, and the Fırat University Engineering Faculty Bioengineering Department for providing financial

support in the execution of the project.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest, financial or otherwise.

Author contributions: All authors contributed equally.

References

- Adfa, M., Kusnanda, A. J., Saputra, W. D., Banon, C., Efdi, M., & Koketsu, M. (2017). Termiticidal activity of *Toona sinensis* wood vinegar against *Coptotermes curvignathus* Holmgren. *Rasayan Journal of Chemistry*, 10(4): 1088-1093. <http://dx.doi.org/10.7324/RJC.2017.1041866>.
- Aşkın, A.K., Yiğit, Ş., Saruhan, İ., Akça, İ. (2022). Biyolojik preparatların *Halyomorpha halys* (Stål, 1885)(Hemiptera: Pentatomidae)'a karşı etkinliğinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(1), 100-104.
- Bolu, H., Özgen, I., & Çınar, M. (2005). Dominancy of insect families and species recorded in almond orchards of Turkey. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 40(1-2): 145-157. <https://doi.org/10.1556/aphyt.40.2005.1-2.12>.
- Chen, C. Y., Lapsley, K., & Blumberg, J. (2006). A nutrition and health perspective on almonds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(14): 2245-2250. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2659>.
- Cai, K., Jiang, S., Ren, C., & He, Y. (2012). Significant damage rescuing effects of wood vinegar extract in living *Caenorhabditis elegans* under oxidative stress. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(1): 29-36. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4624>.
- Çakıcı, F., Özgen, İ., Bolu, H., Erbaş, Z., Demirbağ, Z., & Demir, İ. (2015). Highly effective bacterial agents against *Cimbex quadrimaculatus* (Hymenoptera: Cimbicidae): isolation of bacteria and their insecticidal activities. *World J Microbiol Biotechnol*, 31: 59–67. Doi 10.1007/s11274-014-1764-3.
- Hagner, M. (2013). *Potential of the slow pyrolysis products birch tar oil. Wood vinegar and biochar in sustainable plant protection: pesticidal effects soil improvement and environmental risks*. Department of Environmental Sciences Faculty of Biological and Environmental Sciences University of Helsinki. Master Thesis, Finland.
- Kaplan, M., Saltuk, B., 2021. Determination of the environmental effects of plant protection products in fighting pests in greenhouse vegetable production: Batman province example. *International Journal of Scientific and Technological Research*. Vol.7, No.6, 2021. Page: 1-16.
- Kaplan, M., 2019. Determining The Criterion and biotechnical struggle methods against *Forficula auricularia* L. (Dermaptera: Forficulidae) *Harming in Apricot Orchards In Turkey*. *Fresenius Environmental Bulletin*, Volume 28-No. 9/2019 pages 6701-6706.

- Koç, İ., & Yardım, E. N. (2018). Buğday agro-ekosistemlerinde pestisitlerin ve odun sirkesinin kültür bitkisindeki arthropodlara etkilerinin tespiti üzerine araştırma. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(1): 39-45.
- Koc, I., Yardim, E. N., Akca, M. O., & Namli, A. (2018). Impact of pesticides and wood vinegar, used in wheat agro-ecosystems, on the soil enzyme activities. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(4): 2442-2448.
- Koç, İ. (2019). Study of some biological parameters of the red californian earthworm *Eisenia foetida* (Savigny, 1826) in vermicompost following the application of wood vinegar. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2): 4527-4538. Doi: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1702_45274538.
- Koç, İ., & Yardım, E. N. (2019). Pestisitlerin ve odun sirkesinin bazı mikrobiyal ve fiziko-kimyasal toprak parametrelerine etkilerinin araştırılması. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(6): 896-904. Doi:10.18016/ksutarimdog.vi.550376.
- Koç, İ., Ögün, E., Namli, A., Mendes, M., Kutlu, E., & Yardım, E. N. (2019). The effects of wood vinegar on some soil microorganisms. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2): 2437-2447. Doi: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1702_24372447.
- Koç, İ. (2020). Change of arthropod communities in a wheat field after application of wood vinegar produced from nutshells. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(1): 105-111. Doi:10.18016/ksutarimdog.vi.569631.
- Namli, A., Akça, M. O., Turgay, E. B., & Soba, M. R. (2014). Odun sirkesinin tarımsal kullanım potansiyelinin araştırılması. *Toprak Su Dergisi*, 3(1): 44-52.
- Orahahi, H. A., & Yoshimura, T. (2013). Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from *Vitex pubescens* Vahl. *Journal of Wood Science*, 59(4): 344-350. Doi: 10.1007/s10086-013-1340-8.
- Orahahi, H. A., Yoshimura, T., Diba, F., & Setyawati, D. (2018). Antifungal and antitermitic activities of wood vinegar from oil palm trunk. *Journal of Wood Science*, 64(3): 311-317. <https://doi.org/10.1007/s10086-018-1703-2>.
- Omulo, G., Willett, S., Seay, J., Banadda, N., Kabenge, I., Zziwa, A., & Tenders, R. (2017). Characterization of slow pyrolysis wood vinegar and tar from banana wastes biomass as potential organic pesticides. *Journal of Sustainable Development*, 10(3): 81-92. <https://doi.org/10.5539/jsd.v10n3p81>.
- Özbek, H. (2014). Ichneumonid parasitoids of the sawfly *Cimbex quadrimaculata* (Müller) feeding on almonds in Antalya, along with a new parasitoid and new record. *Turk J. Zool.*, 38: 657-659. <https://doi.org/10.3906/zoo-1311-47>.
- Özgen, İ., Çelik, N., Topdemir, A., Koç, İ., & Güral, Y. (2018). "Tribolium confusum" Jacquelin du val'a karşı tavuk ve fındık sirkelerinin insektisidal etkinliklerinin belirlenmesi". 1. Uluslararası İğdır Multi Disipliner Çalışmalar Kongresi. İğdır, Vol II: 1568-1577s.
- Pangnakorn, U., Kanlaya, S., & Kuntha, C. (2012). Effect of wood vinegar for controlling on housefly (*Musca domestica* L.). *Int. J. Med. Biol. Sci.*, 6: 283-286.
- Rui, Z., Wei, D., Zhibin, Y., Chao, Z., & Xiaojuan, A. (2014). Effects of wood vinegar on the soil microbial characteristics. *J Chem Pharma Res.*, 6(3): 1254-1260.
- Şimşek, M., & Gülsoy, E. (2017). Güneydoğu Anadolu Bölgesinin Badem (*Prunus amygdalus* L.) Potansiyeline Genel Bir Bakış. *İğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Derg.*, 7(3): 19-29.
- Tiilikkala, K., Fagernäs, L., & Tiilikkala, J. (2010). History and use of wood pyrolysis liquids as biocide and plant protection product. *The Open Agriculture Journal.*, 4: 111-118.
- Wititsiri, S. (2011). Production of wood vinegars from coconut shells and additional materials for control of termite workers, *Odontotermes* sp. and striped mealy bugs, *Ferrisia virgata*. *Songklanakarin Journal of Science & Technolog.*, 33(3): 349-354.
- Yamauchi, K., & Matsumoto, Y. (2016). Wood vinegar from broadleaf tree bark carbonized at low temperature has exterminating effect on red mites by invading into their bodies. *Academia Journal of Agricultural Research.*, 4(3): 145-159.
- Yatagai, M., Nishimoto, M., Hori, K., Ohira, T., & Shibata, A. (2002). Termiticidal activity of wood vinegar, its components and their homologues. *Journal of Wood Science.*, 48(4): 338-342.



Molecular screening of registered durum wheat (*Triticum durum*) varieties and landraces to common bunt disease in Türkiye

Türkiye 'de tescilli makarnalık buğday (*Triticum durum*) ve yerel çeşitlerin sürme hastalığına karşı moleküler taraması

Ahmet ÇAT^{1*}

¹Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Siirt University, Siirt, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-5638-0319>

To cite this article:

Çat A. (2024). Molecular screening of registered durum wheat (*Triticum durum*) varieties and landraces to common bunt disease in Türkiye. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 29-38
DOI: 10.29050/harranziraat.1342413

*Address for Correspondence:

Ahmet ÇAT
e-mail:
ahmetcat@siirt.edu.tr

Received Date:

13.08.2023

Accepted Date:

23.02.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ABSTRACT

Common bunt caused by the basidiomycetes fungi *Tilletia caries* and *Tilletia foetida* is significant wheat disease, particularly following rust (*Puccinia* spp.) diseases. Seed treatment with fungicides has traditionally been the primary method for disease control. However recently its effectiveness has reduced. Growing resistant plant materials are therefore preferred to management of common bunt disease. In this regard, the current study was conducted to detect common bunt resistance genes (*Bt8*, *Bt10*, and *Bt11*) in a total of 61 registered durum wheat varieties and landraces using molecular techniques. In PCR assay, these plant materials were screened with SSR marker Xgwm114 to identify whether they carried any of the *Bt* resistance genes. According to the molecular results, most of the tested varieties and landraces were found in the *Bt8* resistance gene (15 registered varieties and 5 landraces). Additionally, the results showed that none of the tested varieties and landraces had gene combinations. To sum up, this is the first molecular study to identify common bunt resistance genes in durum wheat varieties and landraces in Türkiye. Furthermore, these findings can be used in breeding programs to management with common bunt disease.

Key Words: Durum wheat, common bunt, *Bt* genes, resistance genes, marker

ÖZ

Basidiomycetes fungusu *Tilletia caries* ve *Tilletia foetida*'nın neden olduğu sürme hastalığı buğdayda pas (*Puccinia* spp.) hastalıklarından sonra önemli bir hastalıktır. Bu hastalığı kontrol etmek için genellikle tohum ilaçlaması yapılır, ancak son zamanlarda etkinliği azalmıştır. Bu nedenle, hastalık ile mücadelede dayanıklı bitki materyalleri tercih edilmektedir. Bu kapsamda, mevcut çalışmada toplam 61 tescilli makarnalık buğday çeşidinde ve yerel çeşitlerde sürme dayanıklılık genlerini (*Bt8*, *Bt10* ve *Bt11*) moleküler tekniklerle belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. PCR analizinde, kullanılan bitki materyallerinde *Bt* dayanıklılık genlerini tanımlamak için SSR belirteci Xgwm114 kullanılmıştır. Moleküler sonuçlara göre, test edilen tescilli çeşit ve yerel çeşitlerin çoğunda *t8* dayanıklılık geninin bulunduğu tespit edilmiştir (15 tescilli çeşit ve 5 yerel çeşit). Ayrıca, sonuçlar test edilen materyallerin gen kombinasyonu içermediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, Türkiye'deki tescilli makarnalık buğday ve yerel çeşitlerde sürme dayanıklılık genlerinin tanımlandığı ilk moleküler çalışmadır. Ayrıca, bu bulgular buğdayda sürme hastalığı ile ilgili ıslah programlarında kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Makarnalık buğday, sürme, *Bt* genleri, dayanıklılık genleri, belirteç

Introduction

Common bunt (CB) caused by *Tilletia caries* and *T. foetida* can cause dramatically grain yield losses in wheat. Generally, grain yield decreases on infected plant with CB disease compared to the non-infected plants and their quality is also low which due to the infected heads filled with dark colore bunt balls spores (Goates et al. 1996; Mourad et al. 2018). Seed treatment with fungicides is an effective strategy for managing common bunt disease. However, genetic resistance is a more suitable control method to the disease and also it mitigates the need for chemical seed treatments and can be particularly advantageous in organic farming systems.

Marker-Assisted Selection (MAS) has been widely used in the resistance breeding studies to fungal pathogens. Molecular markers, when associated with bunt resistance genes, can assist in the development of resistant varieties. They enable the determination of resistance and the introgression of resistance genes into varieties with good agronomic traits (Matanguihan et al. 2011). Since symptoms of bunt disease become apparent when the plant matures, screening for resistant varieties is time-consuming. In addition, when disease incidence is low, it is difficult to detect on common bunt disease in wheat since the evaluation of the variety reaction varies according to environmental effects. For these reasons, to identify for common bunt resistance, it is necessary to have information about the genes that confer resistance to common bunt (Mourad et al. 2018). The resistance is often controlled by a single gene with complete or incomplete dominance effect (Knox et al. 1998). To date, 16 race-specific resistance genes, ranging from *Bt1* to *Bt15*, and *Btp*, have been identified for common bunt (Goates, 2012). Similarly, mapping studies has been conducted for some of these 16 resistance genes (Menzies et al. 2006). These genes are determined by employing the race differential set (Matanguihan et al., 2011). The study of Mamluk (1998) emphasized the *Bt5*, *Bt6*, *Bt8*, *Bt9*, *Bt10*, and

Bt11 resistance genes are effective in common bunt pathogen race/races.

In Türkiye, a study conducted by Mamluk and Nachit (1994), durum wheat genotypes were tested against nine common bunt isolates obtained from the West Asia and North Africa (WANA) region. According to the obtained results, it was reported that 26 genotypes showed resistance reactions. In another study, to identify the common bunt resistance in durum wheat varieties, resistance tests were conducted against disease races virulent on 10 *Bt* resistance genes, as well as local races in the Mediterranean Region from 1988 to 1991. In the reaction analysis, it was determined that five out of 29 durum wheat varieties showed resistance reactions (Ataç and Çetin 1995). A review study reported by Mamluk et al. (1997) evaluated the prevalence of the dominant common bunt pathotypes in Türkiye, Egypt, Syria, Tunisia, Lebanon, Iran, and Morocco. In Türkiye, 37 and 88 races were reported in 1981 and 1983 respectively. it was also stated that five races were similar to North American races. As mentioned above, it can be seen that the conducted studies were mainly based on the use of a race differential set and their reactions against to common bunt disease. According to the literature, there is no study currently published information available regarding the common bunt resistance genes using the molecular techniques in Türkiye. To sum up, the objective of this study is to molecular screening of the durum wheat varieties and landraces for resistance to common bunt disease in Türkiye.

Materials and Methods

Plant materials

A total of 61 durum wheat including 51 registered varieties and 10 landraces were used in this study. Information about these varieties and landraces were given in Table

DNA extraction, PCR analysis and gel

electrophoresis

At least three seeds of each variety were planted in plastic pots (with mixture of seat and peat in 1:1 and grown up to the ZGS 12-13 of seedling (Zadoks et al., 1974). . Later, the leaves of each variety were collected and transferred to 1.5 ml Eppendorf tubes for the DNA isolation. NucleoSpin Plant II (Macherey-Nagel) DNA isolation kit was used for total genomic DNA

extraction. To quality of the isolated DNAs was control by agarose gel electrophoresis and stored at -20°C until used. To identify *Bt8*, *Bt10* and *Bt11* resistance genes carries of each variety, SSR marker Xgwm114 (F: 5'-ACAAACAGAAAATCAAAACCCG-3', R: 5'-ATCCATCGCCATTGGAGTG-3') (Goates and Mercier, 2009) which is located on chromosome 3B was used in the current study.

Table 1. Information about the durum wheat varieties/landraces used in this study

No	Variety	Release year	Pedigree
1	Kunduru 414/44	1963	Landrace
2	Berkmen 469	1967	Landrace
3	Çakmak 79	1979	UVEYIK-162/ND-61-130
4	Kızıltan 91	1991	UVEYIK-162/61-130//BARRIGON-YAQUI-ENANO*2/TE
5	Altın 40/98	1998	BARRIGON-YAQUI-ENANO/2*TEHUACAN-60//2B//LONGSHANKS/3/BERKMEN-469
6	Yılmaz 98	1998	DF-9-71/3/V-2466//ND-61-130/414-44/4/ERGENE KOBAK-2916/LEEDS//6783/3/BERKMEN-469/7/CRANE/GANSO//APULICUM/3/DF-17-72/4/DI-165137/GEDİZ-75/5/ANHINGA/6/CASTELPORZIANO/G2//2*TEHUACAN-60/TEHUACAN-60
7	Ankara 98	1998	61-130/KUNDURU-414-44//377-2
8	Çeşit-1252	2000	GD-2/D-1184528
9	Mirzabey 2000	2000	CMK79//14-44/OVIACHIC-65/3/BERKMEN/OVIACHIC-65/4/KUNDURU-1149/5/LEEDS//DWARF-MUTANT/SARIBASAK
10	Eminbey	2009	
11	İmren	2009	DF-21-72/GERARDO-VZ-466//ND-61-130/414-44/3/ERGENE/4/DF-21-72//ND-61-130/UVEYIK-162/3/128-3
12	Kunduru 1149	1967	Landrace
13	Altıntaş 95	1995	KUNDURU//D-68111/WARD
14	Kümbet 2000	2000	ND-61-130//414-44/377-2/3/DF-15-72
15	Yelken 2000	2000	ZF/LEEDS//FORAT/3/ND-61-130/LEEDS/4/AU-107/5/GERARDO
16	Dumlupınar	2006	BERKMEN/G-75-T-181
17	Fata Sel	1961	Landrace
18	Selçuklu-97	1997	073-44*2/OVIACHIC-65/3/DF-21-72//ND-61-130/UVEYIK-162
19	Meram-2002	2002	ND-61-130/414-44//CAKMAK-79
20	Tunca 79	1979	FATA(SEL.181-1)/ND-61-130//LEEDS
21	Gökgöl 79	1979	BUCK-BALCARCE//BARRIGON-YAQUI-ENANO*2/TEHUACAN-60
22	Diyarbakır-81	1987	LD-393//BELADI-116-E/2*TEHUACAN-60/3/COCORIT-71
23	Ceylan 95	1995	STORK/RABICORNO
24	Sarı çanak 98	1998	DACKIYE/GEDİZ-75//USDA-575

25	Altın toprak 98	1998	ALTAR-84/ARAOS
26	Aydın-93	2002	JORI-C-69/HAURANI
27	Fırat-93	2002	SNIFE/3/JORI-C-69/CRANE/GANSO/ANHINGA
28	Artuklu	2008	LAHN//GANSO/STORK
29	Eyyubi	2008	MORUS//ALTAR-84/ALONDRA
30	Şahinbey	2008	Unknown
31	Zühre	2010	SN-TURK-M-183-84-375/NIGRIS-5//TANTLO-1
32	Güney Yıldızı	2010	RASCON-39/TILD-1
33	Gediz-75	1976	LD-357-E/2*TEHUACAN-60//JORI-69
34	Ege 88	1988	JORI-C-69/ANHINGA//FLAMINGO
35	Salihli 92	1992	SHWA//21563/ANHINGA/3/EGE-88
36	Tüten 2002	2002	ALTAR-84/AVETORO/3/GANSO/FLAMINGO//CANDO
37	GAP	2004	GEDIZ-75//FLAMINGO//TEAL
38	Turabi	2004	CRESO/CRANE
39	Sham-1	1991	PELICANO/RUFF//GAVIOTA/ROLETTE
40	Amanos-97	1997	OSTRERO//CELTA/YAVAROS,
41	Fuatbey 2000	2000	Unknown
42	Sarı Başak	2013	Unknown
43	Akçakale-2000	2002	SCHELLENTE//CORMORANT/RUFFOUS/3/AJAIA FLAMINGO,MEX/GARZA//CANDEAL-1/GREBE/3/CENTRIFEN/FLAMINGO,MEX/PETREL,MEX/5/AKBASAK-073-44/YERLI/6/CAR
44	Özberk	2005	Unknown
45	Pınar-2001	2001	Unknown
46	Zenit	2001	VALRICCARDO/VIC
47	Svevo	2001	CIMMYT-SELECTION/ZENIT
48	Levante	2011	G-80/PICENO//IONIO
49	Saragolla	2011	IRIDE/LINEA-PSB-0114
50	Maestrade	2012	IRIDE/SVEVO
51	Bisante	2012	Unknown

Landraces			
No	Name	No	Name
1	Landrace 1	6	Landrace 6
2	Landrace 2	7	Landrace 7
3	Landrace 3	8	Landrace 8
4	Landrace 4	9	Landrace 9
5	Landrace 5	10	Landrace 10

Polymerase chain reaction (PCR) was carried out in a thermal cycler (T100: BioRad, USA). Total reaction volume was 15 µL with 1X PCR buffer (50 mmol KCl, 10 mmol Tris-HCl, pH 8.3), 1.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP mix, 1U Taq DNA polymerase, each of forward and reverse primers (10 µM), 100 ng template DNA and double distilled water. The PCR reaction was performed an initial denaturation at 94 °C for 3 min, 35 cycles of denaturation at 94 °C for 1 min, annealing at 58 °C for 30 s, and extension at 72 °C for 1 min and last extension at 72 °C for 5 min. The amplified PCR products were separated on 2.5% agarose gel staining with ethidium bromide at 80 V for 2 h. UVP UVsolo touch gel imaging system (Analytik Jena, Germany) was used to visualize the PCR bands under UV. The sizes of the PCR products were determined by using the 100 bp DNA ladders as reference standard.

Data analysis

For data analysis, the obtained band with a different size of each *Bt* resistance gene was scored as presence (1) or absence (0) and the data was recorded in Excel software.

Results and Discussion

Molecular markers associated with resistance genes provide facilities for the development of resistant varieties and the transfer of these

resistance genes to cultivars with good agronomic traits (Muellner et al. 2021). Randhawa et al. (2013) stated that marker-assisted selection in resistance to common bunt disease in wheat is crucial. In accordance with this, the usage of molecular markers has been rapidly increasing in recent years (Wang et al. 2019; Aboukhaddour et al. 2020; Mourad et al. 2023; Amangeldikyzy et al. 2023). One of the most effective methods to manage common bunt disease is the use of resistant cultivars in production. Therefore, the aim is to transfer existing *Bt* genes or new resistance genes that provide resistance to common bunt into wheat (Madenova et al. 2021). To detect the presence of the *Bt8*, *Bt10*, and *Bt11* genes, PCR analysis was conducted by using the Xgwm114 marker. This primer amplified fragments of 180, 160, and 120 bp linked to resistance genes *Bt8*, *Bt10*, and *Bt11* respectively (Goates and Mercier, 2009). In the present study, the Xgwm114 marker was used and it was determined that common bunt resistance genes namely *Bt8*, *Bt10* and *Bt11* are found in durum wheat varieties and landraces (Figure 1).

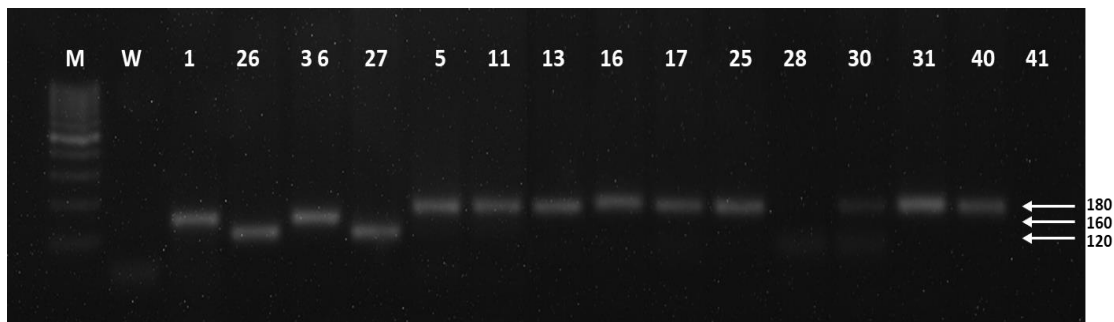


Figure 1. Agarose gel electrophoresis of *Bt* genes. M: DNA ladder (100 bp), W: Water and the numbers of lanes corresponding to the durum wheat materials as stated in Table 1. The arrow shows resistance fragments *Bt8*, *Bt10* and *Bt11* genes 180, 160 and 120 respectively.

Among the *Bt* resistance genes, the resistance gene *Bt8* was detected in 15 durum wheat varieties (Altın 40/98, İmren, Kunduru 1149,

Altıntaş 95, Dumlupınar, Fata Sel, Altın toprak 98, Şahinbey, Zühre, Amonos-97, Sarı Başak, Levante, Saragolla, Maestrale and Bisante) and five

landraces (Table 2).

Table 2. Molecular screening of registered and landraces durum wheat varieties.

No	Varieties	Resistance genes			No	Varieties	Resistance genes		
		<i>Bt8</i>	<i>Bt10</i>	<i>Bt11</i>			<i>Bt8</i>	<i>Bt10</i>	<i>Bt11</i>
1	Kunduru 414/44	-	+	-	27	Fırat-93	-	-	+
2	Berkmen 469	-	-	-	28	Artuklu	-	-	-
3	Çakmak 79	-	-	-	29	Eyyubi	-	-	-
4	Kızıltan 91	-	-	-	30	Şahinbey	+	-	-
5	Altın 40/98	+	-	-	31	Zühre	+	-	-
6	Yılmaz 98	-	-	-	32	Güney Yıldızı	-	-	+
7	Ankara 98	-	-	-	33	Gediz-75	-	-	-
8	Çeşit-1252	-	-	-	34	Ege 88	-	-	-
9	Mirzabey 2000	-	-	-	35	Salihli 92	-	-	-
10	Eminbey	-	-	-	36	Tüten 2002	-	+	-
11	İmren	+	-	-	37	GAP	-	-	-
12	Kunduru 1149	+	-	-	38	Turabi	-	-	-
13	Altıntaş 95	+	-	-	39	Sham-1	-	-	-
14	Kümbet 2000	-	-	-	40	Amanos-97	+	-	-
15	Yelken 2000	-	-	-	41	Fuatbey 2000	-	-	-
16	Dumlupınar	+	-	-	42	Sarı Başak	+	-	-
17	Fata Sel	+	-	-	43	Akçakale-2000	-	-	+
18	Selçuklu-97	-	-	-	44	Özberk	-	-	-
19	Meram-2002	-	-	-	45	Pınar-2001	-	-	-
20	Tunca 79	-	-	-	46	Zenit	-	-	-
21	Gökgöl 79	-	-	-	47	Svevo	-	-	-
22	Diyarbakır-81	-	-	-	48	Levante	+	-	-
23	Ceylan 95	-	-	-	49	Saragolla	+	-	-
24	Sarı çanak 98	-	-	-	50	Maestrone	+	-	-
25	Altın toprak 98	+	-	-	51	Bisante	+	-	-
26	Aydın-93	-	-	+					
1	Landrace 1	+	-	-	6	Landrace 6	-	-	+
2	Landrace 2	+	-	-	7	Landrace 7	-	-	+
3	Landrace 3	+	-	-	8	Landrace 8	-	+	-
4	Landrace 4	+	-	-	9	Landrace 9	-	+	-
5	Landrace 5	+	-	-	10	Landrace 10	-	-	+

The CB resistance gene *Bt10* was only detected in two varieties (Kunduru 414/44 and Tüten 2002). Among the tested landraces, the *Bt10* gene was found in two landraces. Menzies et al. (2006) stated that *Bt10* is commonly employed in wheat breeding programs due to its efficacy against the majority of common bunt races. In line with this, these genotypes carrying the *Bt10* gene can be used to control of the pathogen. In the present work, the resistance gene *Bt11* was molecularly detected in four varieties namely, Aydın-93, Fırat-93, Güney Yıldızı and Akçakale-2000). In addition, this resistance gene was found in three landraces

(Table 2). In a similar way to the current study, several studies have been conducted to determine the presence of common bunt resistance genes in wheat varieties. As for these studies, 43 Kazakh and foreign winter wheat cultivars were tested to determine resistance genes, *Bt9* and *Bt10*, and their results showed that four and seven varieties contained *Bt9* and *Bt10* respectively (Madenova et al. 2019). Similarly, it was shown to be an effective resistance gene to common bunt disease and as a result of these studies, different *Bt* genes effective in Syria (*Bt5*, *Bt8*, *Bt9*, *Bt10*, and *Bt11*), Iraq (*Bt1*, *Bt3*, *Bt9*, *Bt11*, and *Bt12*), America (*Bt6*, *Bt9*, *Bt11*,

Bt12, Bt13, Bt15, and Btp), Australia (*Bt8, Bt9, and Bt10*) and Kazakhstan (*Bt8, Bt9, Bt10 and Bt11*) were identified (Mamluk and Nachit, 1994; Al-Maaroof et al., 2016; Hagenguth, 2016; Mourad et al., 2018; Madenova et al. 2021; Moruad et al. 2023). When examining the previous works conducted in Türkiye, common bunt isolates have been tested on differential sets, the virulence phenotypes of existing races and their reactions on wheat genotypes have been revealed (Finci, 1981; Akçura and Akan, 2018; Morgounov et al. 2018; Moruad et al. 2023). On the other hand, based on the molecular findings, none of the tested varieties and landraces had two or three gene-based resistance in the present work. Contrary to the results obtained in this study, Madenova et al. (2021) identified four *Bt* resistance genes (*Bt8, Bt9, Bt10, and Bt11*) in the one variety “Karasai” in their study. In summary, molecular research focusing on the identification of the specific *Bt* resistance genes present in existing varieties have been performed recently but there is no molecular study in Türkiye related with this. Therefore, with this conducted research, the presence of *Bt* genes in durum wheat genotypes has been revealed at the molecular level for the first time.

Conclusion

The presence of resistance genes *Bt8, Bt10, and Bt11*, which provide resistance against common bunt disease, has been detected in the tested varieties in the current study. According to molecular results, it was determined that the tested material contains different *Bt* genes, and most of them had *Bt8* resistance gene. In addition, two or three combinations of each resistance gene were not found., The varieties identified to contain resistance genes can be used as parents in the wheat breeding program to control of the common bunt disease.

Acknowledgments: The author thanks Mehmet TEKİN from Akdeniz University for providing plant materials.

Conflict of interest: The author declares that there is no conflict of interest.

Author Contributions: The author performed the conceptualization, formal analysis, investigation, validation, writing-original draft, writing-review and editing.

References

- Aboukhaddour, R., Fetch, T., McCallum, B. D., Harding, M. W., Beres, B. L., & Graf, R. J. (2020). Wheat diseases on the prairies: A Canadian story. *Plant Pathology*, 69(3), 418-432.
- Akçura, M., & Akan, K. (2018). Assessment of the reactions of pure lines selected from Turkish bread wheat landraces against bunt disease (*Tilletia foetida*) with the GGE-biplot method. *Plant Genetic Resources*, 16(4), 325-333.
- Amangeldikyzy, Z., Galymbek, K., Gabdulov, M., Amangeldi, N., Irkitbay, A., Suleimanova, G., & Sapakhova, Z. (2023). Identification of new sources of wheat stem rust resistance genes. *Research on Crops*, 24(1), 15-27.
- Ataç, A., & Çetin, V. (1995). Investigations on the reactions of some wheat varieties and lines against the physiologic races of common bunt disease of wheat [*Tilletia foetida* (wallr.) Liro., *T. caries* (dc) tul.] determined in Türkiye. *Plant Protection Bulletin*, 35(3-4), 177-189.
- Finci, S. (1981). Studies on the Pathogenic Races of *Tilletia foetida* and *Tilletia caries* and their Pathogenicity on Some Wheat Varieties in Turkey. *EPPO Bulletin*, 11(2), 77-82.
- Goates, B. J. (1996). Bunt and Smut Diseases of Wheat. Mexico: CIMMYT.
- Goates, B. J. (2012). Identification of new pathogenic races of common bunt and dwarf bunt fungi, and evaluation of known races using an expanded set of differential wheat lines. *Plant disease*, 96(3), 361-369.
- Goates, B. J., & Mercier, J. (2009). Effect of biofumigation with volatiles from *Muscodor albus* on the viability of *Tilletia* spp. teliospores. *Canadian journal of microbiology*, 55(2), 203-206.
- Hagenguth, J. F. (2016). *Breeding for organic agriculture: Evaluation of common bunt resistance in three winter wheat populations derived from M822123, PI178383 and PI560841-bcl* (Doctoral dissertation, PhD Thesis. Vienna, 2016. 135).
- Knox R, Fernandez M, Brûlé A, DePauw R. (1998). Inheritance of common bunt resistance in androgenetically derived doubled haploid and random inbred populations of wheat. *Crop Science*, 38, 1119-24.
- Madenova, A. K., Atishova, M. N., Kokhmetova, A. M., Galymbek, K., & Yernazarova, G. I. (2019). Identification of carriers of resistance to common bunt (*Tilletia caries*) of winter wheat. *Research on Crops*, 20(4), 782-790.
- Madenova, A., Sapakhova, Z., Bakirov, S., Galymbek, K., Yernazarova, G., Kokhmetova, A., & Keishilov, Z.

- (2021). Screening of wheat genotypes for the presence of common bunt resistance genes. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(5), 2816-2823.
- Mamluk, O. F. (1998). Bunts and smuts of wheat in North Africa and the Near East. *Euphytica*, 100, 45-50.
- Mamluk, O. F., & Nachit, M. M. (1994). Sources of resistance to common bunt (*Tilletia foetida* and *T. caries*) in durum wheat. *Journal of Phytopathology*, 142(2), 122-130.
- Mamluk, O. F., Çetin, L., Braun, H. J., Bolat, N., Bertschinger, L., Makkouk, K. M., & Düsünceli, F. (1997). Current status of wheat and barley diseases in the Central Anatolian Plateau of Turkey. *Phytopathologia Mediterranea*, 167-181.
- Matanguihan, J. B., Murphy, K. M., & Jones, S. S. (2011). Control of common bunt in organic wheat. *Plant disease*, 95(2), 92-103.
- Menzies, J. G., Knox, R. E., Popovic, Z., & Procunier, J. D. (2006). Common bunt resistance gene *Bt10* located on wheat chromosome 6D. *Canadian Journal of Plant Science*, 86 (Special Issue), 1409-1412.
- Morgounov, A., Abugalieva, A., Akan, K., Akin, B., Baenziger, S., Bhatta, M., ... & Zelenskiy, Y. (2018). High-yielding winter synthetic hexaploid wheats resistant to multiple diseases and pests. *Plant Genetic Resources*, 16(3), 273-278.
- Mourad, A. M. I., Morgounov, A., Baenziger, P. S., & Esmail, S. M. (2023). Genetic variation in common bunt resistance in synthetic hexaploid wheat. *Plants*, 12(1), 2.
- Mourad, A., Mahdy, E., Bakheit, B. R., Abo-Elwafaa, A., & Baenziger, P. S. (2018). Effect of common bunt infection on agronomic traits in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Genetics and Breeding*, 2(2).
- Muellner, A. E., Buerstmayr, M., Eshonkulov, B., Hole, D., Michel, S., Hagenguth, J. F., ... & Buerstmayr, H. (2021). Comparative mapping and validation of multiple disease resistance QTL for simultaneously controlling common and dwarf bunt in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 134, 489-503.
- Randhawa, H. S., Asif, M., Pozniak, C., Clarke, J. M., Graf, R. J., Fox, S. L., ... & Spaner, D. (2013). Application of molecular markers to wheat breeding in Canada. *Plant Breeding*, 132(5), 458-471.
- Wang, R., Gordon, T., Hole, D., Zhao, W., Isham, K., Bonman, J. M., ... & Chen, J. (2019). Identification and assessment of two major QTLs for dwarf bunt resistance in winter wheat line 'IDO835'. *Theoretical and Applied Genetics*, 132, 2755-2766.



The impact and control of Brown marmorated stink bugs on Turkish hazelnut production

Kahverengi kokarca böceklerinin Türk fındık üretimine etkisi ve kontrolü

Mahir DEMİR*¹ 

¹Department of Mathematics, Giresun University, Giresun, Turkey 28200

¹<https://orcid.org/0000-0002-9670-5210>

To cite this article:

Demir, M. (2024). The impact and control of brown marmorated stink bugs on Turkish hazelnut production. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 39-48
DOI: 10.29050/harranziraat.1278092

*Address for Correspondence:

Mahir DEMİR

e-mail:

mahir.demir@giresun.edu.tr

Received Date:

06.04.2023

Accepted Date:

17.01.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative
Commons Attribution-Non
Commercial 4.0 International License.

ABSTRACT

The Turkish hazelnut is a crucial commodity both in Turkey and globally, with Turkey accounting for approximately 70% of the world's hazelnut production. However, hazelnut harvesting faces significant challenges, one of which is the presence of stink bug pests such as the brown marmorated stink bug (BMSB). This study utilized a mathematical model to examine the adverse impact of pests such as the brown marmorated stink bug [*Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae)] and similar stink bug pests on hazelnut production. The findings revealed that between 2017 and 2022, hazelnut yields in Turkey suffered damage from stink bug pests like the brown marmorated stink bug, amounting to 106,820 tonnes annually and 640,920 tonnes cumulatively. Furthermore, this study demonstrated that the application of control measures, whether through biocontrols, traps, or chemicals, to increase the death rate of BMSB-type pests by 25% or 50%, or to decrease the egg ratio by 25% or 50%, has the potential to save up to 82,506 tonnes of hazelnut production from these pests annually. Overall, this study highlights the importance of managing pest infestations in agricultural production and the potential benefits of using control methods to mitigate their impact.

Key Words: Turkish hazelnut, harvesting, brown marmorated stink bug-type pests, mathematical modeling

Öz

Türk fındığı hem Türkiye'de hem de küresel olarak önemli bir tarım ürünü olup, dünya fındık üretiminin yaklaşık %70'ini Türkiye sağlamaktadır. Ancak, fındık hasadı önemli zorluklarla karşı karşıyadır, bunlardan biri de brown marmorated stink bug ve benzeri zararlılarının varlığıdır. Bu çalışma, matematiksel bir model kullanarak brown marmorated stink bug (*Halyomorpha halys*) ve benzeri zararlılarının fındık üretimi üzerindeki olumsuz etkisini incelemektedir. Bulgular, 2017 ile 2022 yılları arasında Türkiye'deki fındık veriminin brown marmorated stink bug türü zararlılarından kaynaklanan zararı yıllık olarak 106.820 ton ve kümülatif olarak 640.920 ton olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, bu çalışma, brown marmorated stink bug türü zararlıların popülasyonlarındaki ölüm oranını %25 veya %50 artırarak veya yumurtlama oranını %25 veya %50 azaltarak uygulanan kontrol önlemlerinin, bu zararlıların neden olduğu kaybı yıllık olarak 82.506 ton kadar azaltma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Genel olarak, bu çalışma, tarımsal üretimde zararlıların yönetilmesinin önemini ve etkilerini azaltmak için kontrol yöntemlerinin kullanımının potansiyel faydalarını vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Türk fındığı, hasat, kahverengi kokarca böceği benzeri zararlılar, matematiksel modelleme.

Introduction

Hazelnuts are one of the most important fruits in the world, and Turkey is the main producer of hazelnuts since about %70 of hazelnut production worldwide comes from Turkey. However, hazelnut productivity and efficiency of yields are questionable in Turkey due to low productivity. We have two main problems that have been affecting hazelnut production negatively. The first one is the percentage of aged hazelnut trees, unfortunately, the percentage is very high and these aged trees are less productive as compared with young hazelnut trees. Additionally, the presence of harmful insect populations in Turkey is another significant challenge that needs to be addressed. It's important to develop effective pest management strategies that can help control these harmful insect populations and reduce their impact on hazelnut yields. Thus, it is clear that solving one or both of these problems will help farmers to increase the productivity of hazelnut farms in Turkey. Overall, addressing the challenges facing hazelnut production in Turkey is critical to maintaining the country's position as the leading producer of hazelnuts and ensuring a stable global supply of this important crop.

Since stink bug pests are one of the main problems for low production per area in hazelnut orchards in Turkey (Viggiani, 1984; Tuncer and Ecevit, 1997; AliNiazee, 1998), this study will focus on the negative effect of BMSB (Brown Marmorated Stink Bug (*Halyomorpha halys*) -type pests on hazelnut orchards. In Turkey, some pests harm hazelnut production by consuming various plant parts such as leaves and fruits. On the other hand, some insect pests affect the kernel quality by consuming hazelnuts. Besides these, some stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae, Coreidae, and Acanthosomatidae) cause economic damage in hazelnut orchards (Tavella et al., 1997; Tuncer et al., 2005). There are over 15 species of stink bugs have been identified in Turkish hazelnut orchards, as this indicates a significant risk to hazelnut production. Each species of stink bug may cause different types of damage to hazelnuts, such as

discoloration, deformation, and reduced kernel weight. (Kurt, 1975; Tuncer et al., 2005).

Besides these sting bugs, another dangerous sting bug was introduced in Turkey in 2017 which is the brown marmorated stink bug (Çerçi and Koçak, 2017). The BMSB is an invasive, highly polyphagous, severe agricultural pest, that reduces the availability, quality, and value of hazelnut production (Acebes, 2016). Since 2014 a polyphagous invasive insect BMSB has been invaded by Russia (Neimirovets, 2018), distributed in west Georgia, and caused the loss of 70- 90% of the major industrial hazelnut harvest (Meskhi, 2017; Murvanidze et al., 2018; EPPO Global Database, 2019; International Nut and Dried Fruit Council, 2019).

In Turkey, the BMSB was first recorded in Istanbul in 2017 (Çerçi and Koçak, 2017). In the same year, the pest was also documented in Artvin (Güncan and Gümüş, 2019). Following the initial detection of the pest in Turkey, it was found in the Black Sea Region in Rize, Trabzon, Giresun, Ordu, and Samsun (Göktürk et al., 2018; Ak et al., 2019; Göktürk and Tozlu, 2019). Additionally, in the Marmara Region, it was identified in Sakarya and Yalova (Göktürk, 2020; Özdemir and Tunçer, 2021), and in the Aegean Region, it was detected in İzmir (Çerçi, 2021).

Since it is not easy to identify the effect of BMSB from the other sting bug effects on hazelnut orchards in Turkey, the cumulative effect of these sting bugs was considered in this study. Since BMSB was introduced in Turkey in 2017, we will investigate the effect of these sting bugs between the years 2017 and 2022. We will use a mathematical model to capture the effect of sting bugs on hazelnut production by using ordinary differential equations. Using ordinary differential equations in modeling is a very common method for modeling biological or ecological systems (Demir, 2019; Aslan et al., 2022). Note that even if we will explore the cumulative effect of all the sting bugs on hazelnut production in Turkey, we assumed that the BMSB will be the main driver in the reduction of hazelnut production between 2017 and 2022 in Turkey. We are confident with

this assumption since we know that the BMSB caused annually the loss of 70- 90% of the major industrial hazelnut harvest in Georgia (Meskhi, 2017; Murvanidze et al., 2018; EPPO Global Database, 2019; International Nut and Dried Fruit Council, 2019) and this is very huge as we compare the negative effect of the other sting bugs on hazelnut production in Turkey.

In the following sections, we will introduce a mathematical model that was created for this study, and we will estimate the parameters of the model. After that we conduct a sensitivity analysis (parametric analysis). Then, we will present the results of the model and discuss and quantify the impact of BMSB-type pests on hazelnut production. In addition, we took into account several methods of control to exert influence on the egg ratio and death rate of BMSB-type pests. We aimed to assess the potential increase in hazelnut production resulting from a decrease in the egg ratio and an increase in the death rate of these pests through the application of biocontrol, chemical controls, or traps.

Material and Methods

A mathematical model, shown in Equation (1) below, was constructed to assess the impact of stink bugs, including the brown marmorated stink bug, on the production of Turkish hazelnuts. This model will allow us to estimate the annual production of hazelnuts and evaluate the detrimental effects of stink bugs on hazelnut production in Turkey. As the brown marmorated stink bugs were first observed in Turkey in 2017, this study will focus on the years between 2017 and 2022.

Model Formulation

The model given in Eq. (1) represents a predator-prey system, consisting of hazelnut fruits (H) and BMSB-type pests (B). The negative impact of the pests on hazelnut fruits is denoted as $aB(t)H(t)$, while the harvesting of hazelnuts is represented by the term $bH(t)$

$$\begin{aligned}\frac{dH}{dt} &= p(t) - aBH - bH, \\ \frac{dB}{dt} &= cBH - dB\end{aligned}\quad (1)$$

with the initial conditions: $H(0) = H_0$ and $B(0) = B_0$. In the given model, the term $cB(t)H(t)$ represents the growth rate of the BMSB-type pests, while $dB(t)$ represents their death rate. The term $p(t)$ is a pulse that represents the emergence of new hazelnut fruits each spring, which occurs at the beginning of June every year. The size of this pulse may vary due to various factors such as fertilization efficiency, pruning practices, weather conditions, and others. Hence, it is assumed that the size of the pulse follows a normal distribution that is random:

$$p(t) \sim \text{Normal}(\mu, \sigma)$$

where μ and σ represent the mean and standard deviation of the pulse, respectively.

Parameter Estimation

The parameters of model (1) were estimated using annual hazelnut production data from Turkey (FAO, 2021; TUIK, 2022), with the Ordinary Least Squares (OLS) method used to minimize the sum of the squares of the differences between the observed hazelnut production and the model's predictions. The goodness of fit was assessed by calculating the relative error of the fit using the following formula:

$$\min\left(\frac{\sum_{k=1}^n (H_k - \hat{H}_k)^2}{\sum_{k=1}^n (H_k)^2}\right)$$

where H_k and $\hat{H}_k$ are the exact and estimated annual hazelnut production, respectively. An ode45 solver with fmincon from the Optimization Toolbox of MATLAB is used in this parameter estimation.

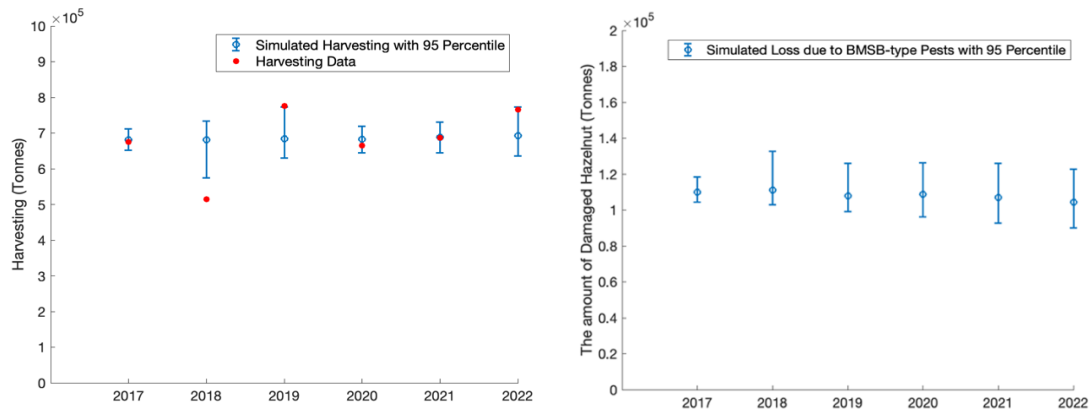


Figure 1. Left plot: the fit of hazelnut fruits with 95% simulation intervals. Right plot: the amount of hazelnut loss due to BMSB-type pests with 95% simulation intervals.

Table1. Parameter descriptions and values.

Parameters	Description	Unit	Value	Source
H_0	Initial biomass of hazelnut fruits	Tonnes	0	Assumed
B_0	Initial biomass of the BMSB-type populations	Tonnes	$2e^3$	Assumed
μ	Mean of hazelnut fruit's pulse	Tonnes	650204	Estimated
σ	Standard deviation of hazelnut fruit's pulse	Tonnes	378208	Estimated
a	Damage rate caused by BMSB-type populations on hazelnut fruits	$(week \times Tonnes)^{-1}$	$1.84e^{-5}$	Estimated
b	Harvest rate of hazelnut fruits	$week^{-1}$	0.37	Estimated
c	Egg ratio of BMSB-type populations due to predation of hazelnut fruits	$(week \times Tonnes)^{-1}$	$8.9e^{-7}$	Estimated
d	Death rate of BMSB-type populations	$week^{-1}$	0.05	Estimated

Note: Here e is the scientific notation in MATLAB and it is a shorthand for 10.

All the parameters were estimated in the model given in Eq. (1) (see Table 1) and the visualization of model fit is presented in Figure 1 with a 95% simulation interval. To obtain the mean and 95 percentiles of hazelnut harvesting and hazelnut loss due to BMSB-type pests, we run the model with estimated parameters 100 times and saved all the outputs, and then obtained the mean and 95 percentiles of these 100 outputs given in Figure 1. In addition, in the result section, all the outputs were obtained similarly by running the model 100 times. Note that we used $bH(t)$ and $aB(t)H(t)$ terms in Eq. (1) to obtain the yield of hazelnut and the hazelnut loss due to BMSB-type pests, respectively.

Sensitivity Analysis of Parameters

Several parameters play important roles in model (1). These parameters were estimated using existing data. To determine the set of parameters that are statistically significant regarding annual

hazelnut production, we conducted a sensitivity analysis (parametric analysis) of the model. Utilizing Latin Hypercube Sampling (LHS) and the partial rank correlation coefficients (PRCC) method (Marino et al., 2008), we sampled parameters from the range provided in Table 2, following a uniform distribution. Subsequently, these samples were employed as input variables when running system (1) for one year, with initial conditions $H_0(0) = 0$ and $B_0(0) = 2e^3$. The annual hazelnut production at the final time serves as the output variable for our sensitivity analysis (see Figure 2). In Figure 2, we employed 300 random parameter values from each parameter interval in Table 2 to identify which parameters are more sensitive to system (1). We present PRCC values, p-values, and the range for each corresponding parameter in Table 2. It's important to note that all analyses were conducted in MATLAB, and the corresponding sensitivity analysis codes modified from the codes provided by Marino et al., 2008.

The sensitivity analysis reveals that the parameters a , b , c , and d are statistically significant due to their high PRCC values. Consequently, there is interest in investigating how the annual hazelnut production fluctuates when varying a , b , c , and d , while keeping all other parameters constant as outlined in Table 1, and maintaining the initial conditions as previously stated. Figure 2 illustrates the outcomes of these experiments, showcasing the variations in annual hazelnut production at the final time for different values of a , b , c , and d .

The PRCC values for c and d are -0.9 and 0.55, respectively. This indicates that the parameter c

(the egg ratio of BMSB-type populations) is more sensitive compared to parameter d (the death rate of BMSB-type populations) when maximizing the annual hazelnut production at the final time. Consequently, reducing the egg ratio of BMSB-type populations will lead to higher annual hazelnut production than increasing the death rate of BMSB-type populations when applying the same effort to decrease the egg ratio or increase the death rate of BMSB-type populations. This result matches with the finding obtained in the following section.

Table 2. Results of sensitivity analysis with partial rank correlation coefficient (PRCC), p -value, and parameter ranges.

Parameters	Description	PRCC	p-value	Range
μ	Mean of hazelnut fruit's pulse	0.24	$2.6e^{-5}$	200000-1000000
σ	Standard deviation of hazelnut fruit's pulse	0.16	0.79	200000-800000
a	Damage rate caused by BMSB-type populations on hazelnut fruits	-0.61	$1.7e^{-34}$	0.000001-0.001
b	Harvest rate of hazelnut fruits	0.82	$1.8e^{-74}$	0.1-0.8
c	Egg ratio of BMSB-type populations due to predation of hazelnut fruits	-0.90	$1.6e^{-107}$	$5e^{-8} - 5e^{-5}$
d	Death rate of BMSB-type populations	0.55	$3.8e^{-25}$	0.0001 - 5

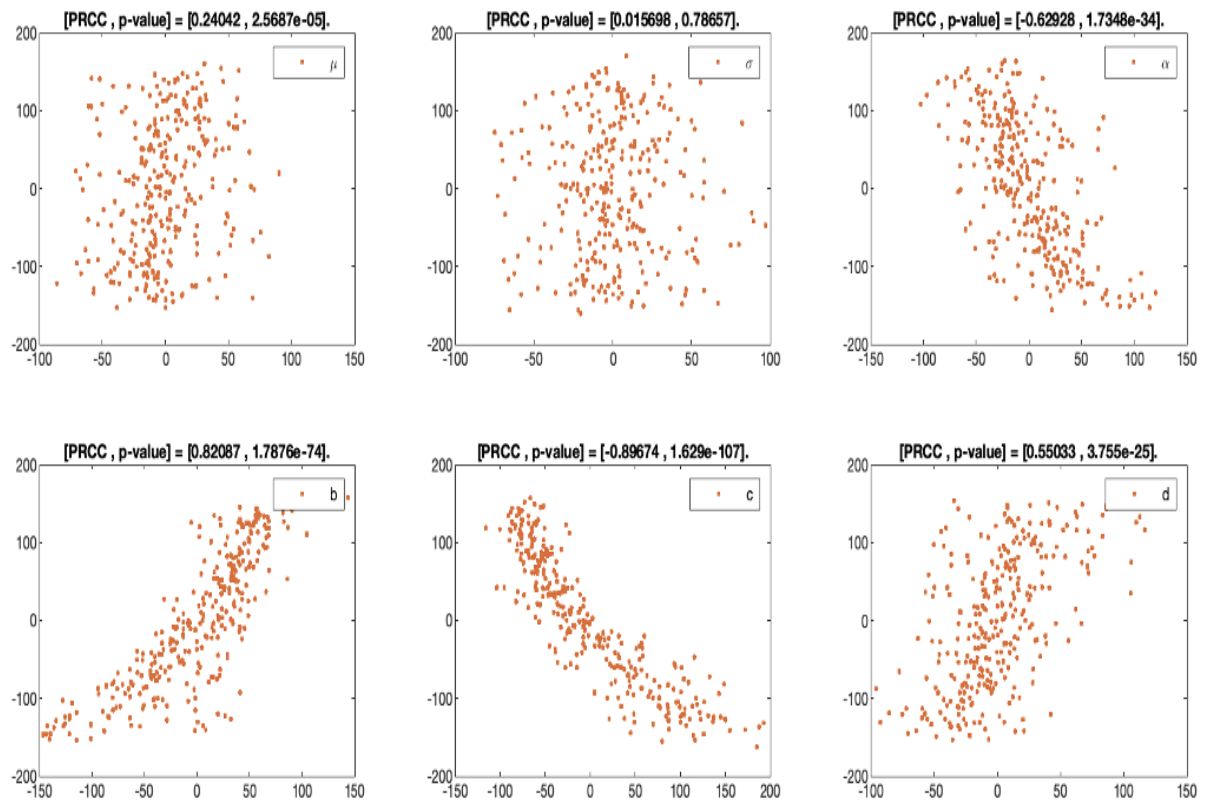


Figure 2. Visualization of sensitivity analysis: X axis denotes the variation of parameters with the ranked range of parameters given in Table 2 and Y axis denotes the change in the annual hazelnut production as we vary parameters in X axis.

Results and Discussion

This section of the study involved fitting the mathematical model with the annual hazelnut production data and presenting the outcomes. Figure 1 not only demonstrated the accuracy of the model in capturing the data but also indicated the quantity of hazelnut yield that was affected. The study found that between 2017 and 2022, approximately 106,820 tonnes of hazelnut yields were damaged per year by the BMSB-type pests in Turkey, with a 95% simulation interval of 94,709 to 120,040 tonnes.

In this result section, we also analyzed the effectiveness of various control methods such as introducing predators as a biocontrol, using chemicals or traps to increase the death rate, and introducing egg and larvae parasites or using specific chemicals to reduce the egg ratio of BMSB-type pests. The goal was to reduce the amount of hazelnut loss caused by these pests. We divided the controls into two types: (1) controls to increase

the death rate of BMSB-type pests, and (2) controls to reduce the egg ratio of BMSB-type pests. We then examined the impact of these controls on hazelnut production.

Effect of increasing death rates of BMSB-type pests via biocontrol, chemicals, or traps

In this subsection, we will explore three commonly used methods to control invasive pests: bio-control, chemical control, and biotechnical control. These methods aim to reduce the abundance of BMSB-type pests and increase their death rate, d . Specifically, bio-control involves introducing a new predator to the system to put more pressure on the pests. Chemical control uses pesticides to eliminate pests, and biotechnical control uses attractive materials to trap them. By reducing the death rate, d , by 25% or 50%, we will investigate the effects of these controls on hazelnut production and quantify the increase obtained when applying such controls. (see Figure 3).

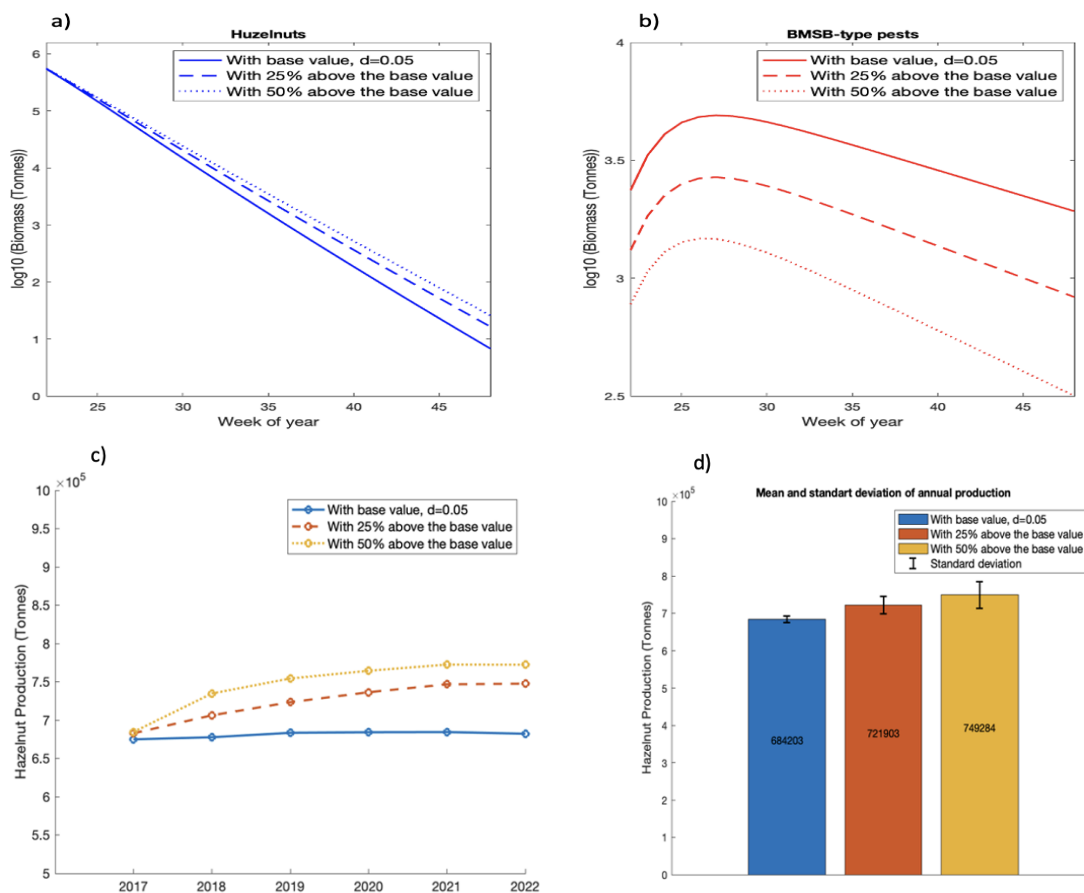


Figure 3. Seasonally averaged biomass of hazelnut fruits and biomass of BMSB-type pests over the period of six years are given in (a) and (b). The effect of varying the parameter, d (death rate of BMSB-type pests) on hazelnut production is given in (c) and (d).

The results of the investigation suggest that the extent to which we increase the death rate is a crucial factor, as we do not observe equal increases in hazelnut production when we increase the death rate by 25% or 50% (as demonstrated in Figures 3c and 3d). By increasing the death rate of the BMSB-type pests by 25% or 50%, we can produce about 721,903 (with a 25% increase) or 749,284 (with a 50% increase) tonnes of hazelnuts, whereas, without any control, the hazelnut yield would be 684,203 tonnes. This means that a 25% increase in the death rate results in an additional 37,700 tonnes of hazelnut production while increasing the death rate from 25% to 50% results in only 27,381 tonnes of additional production. Thus, we do not see the same proportional increases in hazelnut production when we apply a 50% reduction rather than a 25% reduction in the death rate. Overall, this strategy can result in up to 65,081 tonnes of extra hazelnut yield per year.

Effect of reducing the egg ratio of BMSB-type pests via biocontrol or chemicals

The egg ratio of BMSB-type pests can be lowered using biological control (eggs and larvae parasites) or chemical control. This study explores the effects of these methods on hazelnut yields. A 25% or 50% reduction in the egg ratio of the pests was applied, and the resulting increase in hazelnut yield was analyzed. The study found that a 25% increase in the egg ratio resulted in a hazelnut yield of 728,471 tonnes (compared to 681,879 tonnes without control methods), and a 50% increase in the egg ratio resulted in a yield of 756,864 tonnes. Increasing the death rate of the pests by 25% led to an additional 46,592 tonnes of hazelnuts, while a death rate increase from 25% to 50% produced an extra 28,393 tonnes. Overall, the control strategy suggests that we could potentially increase hazelnut yields by up to 74,985 tonnes per year (See Figure 4).

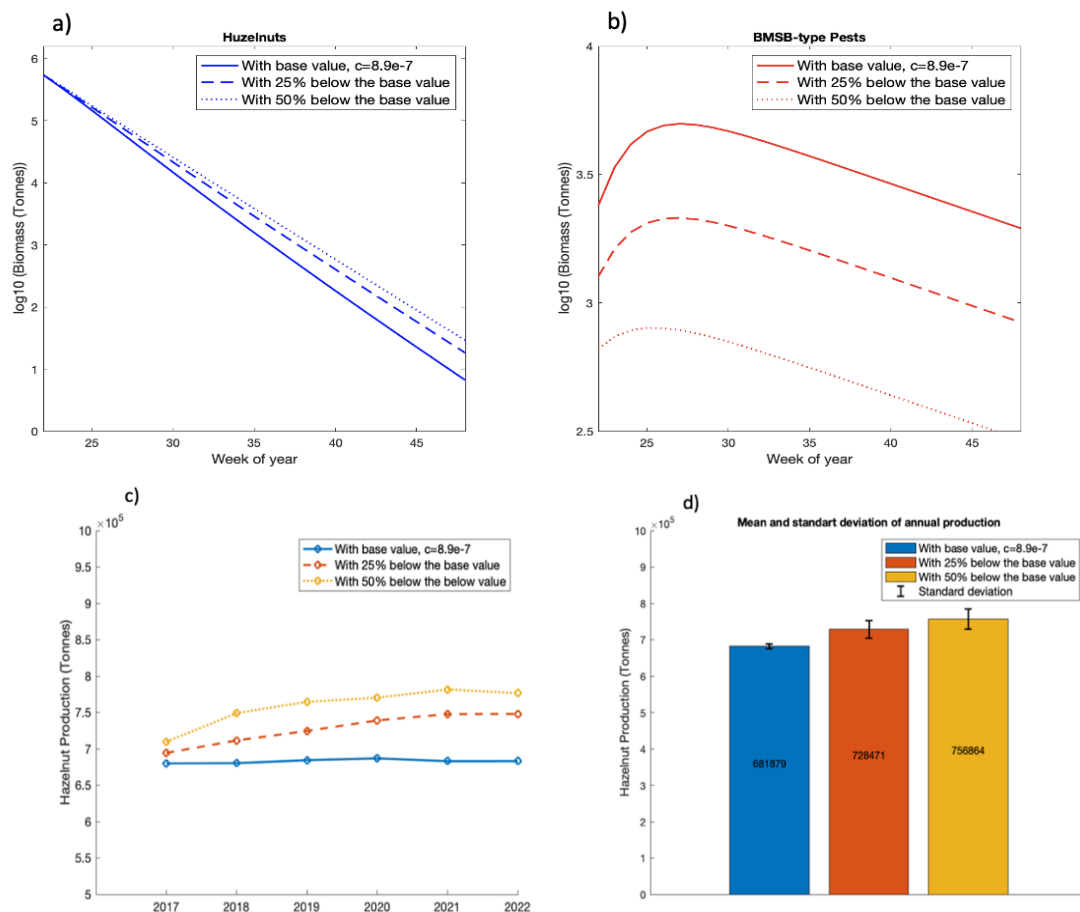


Figure 4. Seasonally averaged biomass of hazelnut fruits and biomass of BMSB-type pests over 6 years are given in (a) and (b). The effect of varying the parameter, c (the egg ratio of BMSB-type pests) on hazelnut production is given in (c) and (d).

Effect of simultaneously reducing egg ratio and increasing death rate of BMSB-type pests

In this subsection, we explore the effect of both strategies mentioned in subsections 3.1 and 3.2. Increasing the egg ratio, c by 25% (or 50 %) and reducing the death rate, d by 25% (or 50 %) lets us produce about 747,631 (764, 751) tonnes of hazelnuts instead of producing 682,245 tonnes

(see Figure 5). Thus, decreasing the egg ratio by 25% and increasing the death rate by 25% brings extra 65,386 tonnes of hazelnut fruits but changing the effort in the death and egg ratio from 25 % to 50% brings about 17,120 tones of extra hazelnut fruits (see c and d in Figure 5). Therefore, applying this strategy can increase annual hazelnut production by up to 82,506 tonnes per year.

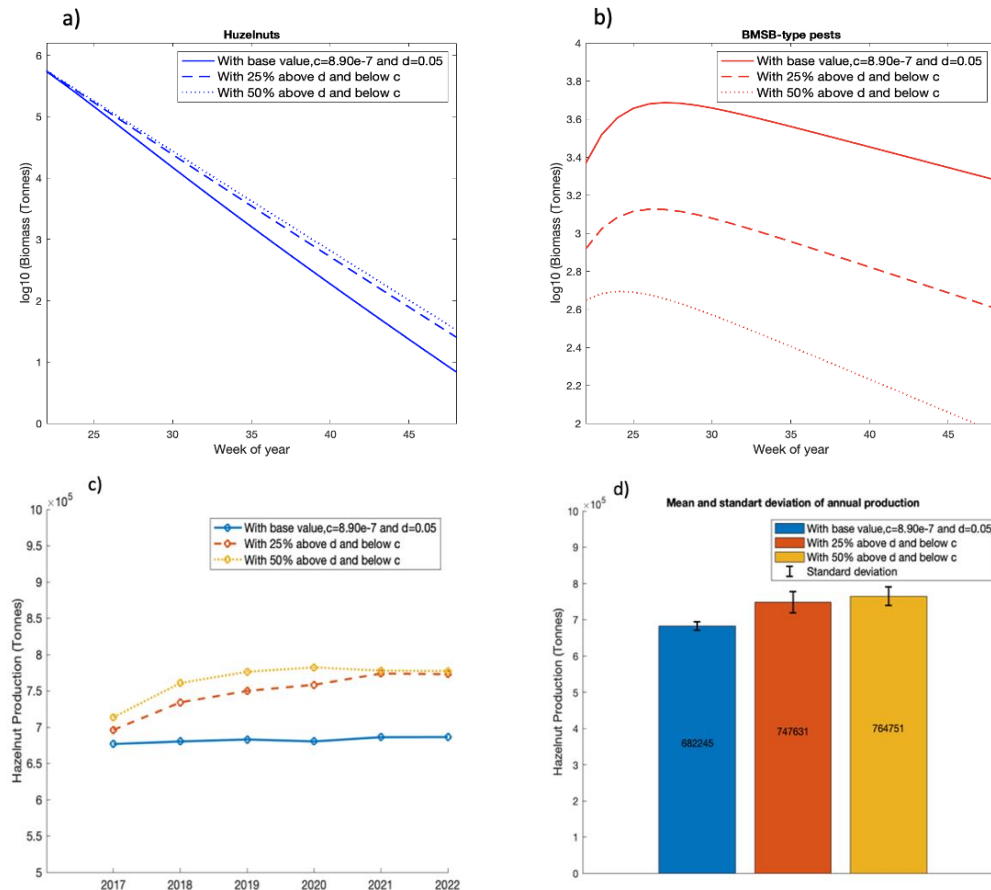


Figure 5. Seasonally averaged biomass of hazelnut fruits and biomass of BMSB-type pests over 6 years are given in (a) and (b). The effect of varying the parameter, c (the egg ratio of BMSB-type pests) and d (death rate of BMSB-type pests) on hazelnut production is given in (c) and (d).

One of the key findings of this study is that the BMSB-type pests in Turkey cause an annual loss of around 106,820 tonnes of hazelnut production, with a 95% simulation interval of 94,709 to 120,040 tonnes. This suggests that between 2017 and 2022, approximately 640,920 tonnes of hazelnuts were lost in Turkey due to these pests.

Another crucial finding of this study is that applying control methods to reduce the egg ratio of BMSB-type pests is more effective in increasing hazelnut yields than applying control methods to increase the death rate. The investigation showed that overall, these control methods can lead to an

increase of up to 82,506 tonnes of hazelnut yield per year, as outlined in section 3.

Considering the cost of implementing these control mechanisms and assuming that the same amount of effort is required to achieve the percentage decreases and increases in egg ratio and death rate of BMSB-type pests, it can be concluded that focusing on controlling the egg ratio of BMSB-type pests is more cost-effective. This conclusion is based on the findings of the study, which indicate that controlling the egg ratio of BMSB-type pests leads to a higher increase in hazelnut production compared to controlling both

the egg ratio and death rate simultaneously, even when the same amount of effort is applied. For instance, if we implement a control mechanism that causes a 50% reduction in the egg ratio or implement a strategy that involves a 25% reduction in the egg ratio and a 25% increase in the death rate of BMSB-type pests simultaneously (with the same cumulative effort), controlling only the egg ratio would lead to higher hazelnut yields.

Furthermore, this analysis indicated that in the long term, applying 25% and 50% effort provided the same increases in hazelnut production in the case we applied both increases in death rate and decrease in the egg ratio of BMSB-type pests (see Figure 5c).

In this study, the percentage of reductions or increases in the egg ratio and death rate of BMSB-type pests was chosen randomly because the optimal values were not known. However, the use of an optimal control technique can help estimate the optimal values for these rates and optimize the efforts required to achieve the maximum increase in hazelnut production (Demir and Lenhart 2020; Demir and Lenhart 2021).

Conclusion

The study highlights the negative impact of BMSB-type pests on hazelnut production in Turkey. It estimates that these pests cause an annual loss of around 106,820 tonnes, resulting in a cumulative loss of about 640,920 tonnes between 2017 and 2022. The study suggests that implementing measures such as biocontrols, chemicals, or traps can help mitigate the damage caused by these pests. By reducing the egg ratio of BMSB-type pests by 25% or 50% and/or increasing the death rate by 25% or 50%, hazelnut production in Turkey can be increased by up to 82,506 tonnes per year between 2017 and 2022.

This study also highlights that implementing any control measures aimed at reducing the egg ratio of BMSB-type pests will result in a greater increase in hazelnut production compared to applying controls to increase the death rate of BMSB-type pests, given the same level of effort.

Appendix A. Data used in this study

Table A1 provides the data used in this study, which is the yield of annual hazelnut production in Turkey (FAO, 2021; TUIK, 2022).

Table A1 The annual yields of hazelnut production between 2017 and 2022 in Turkey.

Years	Hazelnut Production (Tonnes)
2017	675,000
2018	515,000
2019	776,000
2020	665,000
2021	687,412
2022	765,287

Acknowledgments

The author declares that there is nothing to acknowledge.

Funding

There are no funding sources to declare in this study.

Conflict of interest

There is no conflict of interest.

Author contributions

Single author.

References

- Acebes, A. L. (2016). Host plant effects on the biology, behavior and ecology of brown marmorated stink bug, *Halyomorpha Halys* (STÅL) (Hemiptera: Pentatomidae). Ph.D. Dissertation, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Ak, K., Uluca, M., Aydın, Ö., Göktürk, T. (2019) Important invasive species and its pest status in Turkey: *Halyomorpha halys* (Stål)(Heteroptera: Pentatomidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 126(5):401-408.
- AliNiazee, M.T. (1998). Ecology and management of hazelnut pests. *Annu. Rev. Entomol.* 43 (1), 395–419 <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.43.1.395>. PubMed
- Aslan, I.H., Demir, M., Wise, M.M., Lenhart, S. 2022. Modeling COVID-19: Forecasting and analyzing the dynamics of the outbreaks in Hubei and Turkey. *Math Meth Appl Sci.* 2022;1-14. doi:10.1002/mma.8181
- Çerçi, B., Koçak, Ö., 2017. Further contribution to the Heteroptera (Hemiptera) fauna of Turkey with a new synonymy. *Acta Biologica Turcica*, 30 (4):121-127
- Çerçi, B. (2021) First record of *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Pentatomidae: Heteroptera) in Aegean Region of Turkey. *Acta Biologica Turcica*, 34(1):35-37.
- Demir, M. (2019). Optimal Control Strategies in Ecosystem-Based Fishery Models, Ph.D. dissertation, University

- of Tennessee in Knoxville. Available from: https://trace.tennessee.edu/utk_graddiss/5421.
- Demir, M. and Lenhart, S. 2019. Optimal sustainable fishery management of the Black Sea anchovy with food chain modeling framework. *Natural Resource Modeling*, 33(2), 1–29.
- Demir, M. and Lenhart, S. 2021. A Spatial Food Chain Model for the Black Sea Anchovy and its Optimal Fishery. *Discrete and Continuous Dynamical Systems Series B*, 26(1), 155-171.
- EPPO Global Database. <https://gd.eppo.int/taxon/HALYHA>. Accessed. 24 November 2019.
- Göktürk, T., Burjanadze, M., Supatashvili, A., 2018. Artvin ve Çevresinde Halyomorpha halys (Hemiptera: Pentatomidae)'ın Biyolojisi ve Zararı". III. Türkiye Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu 10-12 Mayıs Artvin. Sempozyum Kitabı, s.11,
- Göktürk, T. (2020) *Halyomorpha halys* (Stål) mücadelesinde ışık ve feromon tuzaklarının etkinliklerinin araştırılması. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 21(2):270-275.
- Göktürk, T., Tozlu, G. (2019) Türkiye İçin Önemli Bir Tarımsal Zararlı: İstilacı Tür *Halyomorpha halys*. *International Black Sea Coastline Countries Symposium*. s. 283-297
- Güncan, A., Gümüş, E., 2019. Brown Marmorated Stink Bug, Halyomorpha halys (Stål, 1855) (Hemiptera: Heteroptera, Pentatomidae), a new and important pest in Turkey, *Entomological News*, 128 (2): 204-211.
- International Nut and Dried Fruit Council. <https://www.nutfruit.org/industry/statistics>. Accessed 23 October 2019.
- Kurt, M.A. (1975). Doğu Karadeniz Fındıklarında zarar yapan *Palomena prasina* (Heteroptera: Pentatomidae)'nın biyo-ekolojisi üzerine araştırmalar (Gıda-Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Zir.Müc.ve Zir. Kar. Gen. Müd. Samsun Bölge Zir. Mü c. Araş. Enst. Yayınları No:25), pp.57.
- Marino S, Hogue IB, Ray CJ, Kirschner DE. A methodology for performing global uncertainty and sensitivity analysis in systems biology. *J Theor Biol*. 2008;254(1):178-196.
- Meski N (2017) Monitoring and control strategy of Brown marmorated stink bug (*Halyomorpha halys*) in Georgia Halyomorpha halys- Global Challenge International Experience for Best Solution. Tbilisi, Republic of Georgia. 7 September, Tbilisi.
- Murvanidze M, Krawczyk G, Inasaridze N, Dekanoidze L, Samsonadze N, Macharashvili M, Shengelaia S (2018) Preliminary data on the biology of brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Hemiptera, Pentatomidae) in Georgia. *Turkish Journal of Zoology*. 42(6) 617-624. <https://doi:10.3906/zoo-1802-34>
- Neimirovets VV (2018) Brown marmorated stink bug *Halyomorpha halys* (Heteroptera: Pentatomidae): morphology, biology, distribution, and threats to agriculture in the Russian Federation. *Vestnik*. 4, [https://doi:10.31993/2308-6459-2018-1\(95\)-11-16](https://doi:10.31993/2308-6459-2018-1(95)-11-16)
- Özdemir, İ. O., Tunçer, C. (2021) Türkiye'de Yeni Bir İstilacı Polifag Zararlı, Kahverengi Kokarca [*Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae)]: Tanımı, Benzer Türler ve Mevcut Durum. *Black Sea Journal of Engineering and Science*, 4(2):58-67.
- Tavella, L., Arzone, A., Sargiotto, C., and Sonnat, C. (1997). Coreidae and Pentatomidae harmful to hazelnuts in Northern Italy. *Acta Hort.* 445, 503–510 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.445.65>.
- Tuncer, C., and Ecevit, O. (1997). Current status of hazelnut pest in Turkey. *Acta Hort.* 445, 545–552. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1997.445.70>
- Tuncer, C., Saruhan, I., and Akca, I. (2005). The insect pest problem affecting hazelnut kernel quality in Turkey. *Acta Hort.* 686, 367-376 <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.686.51>
- Viggiani, G. (1984). Avversita, moltiplicazione e fitogafi del nocciolo. In Serie manuali 7 (Italy: Regione campania servizio agricoltura, caccia e pesca).
- FAO (2021), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Crops and livestock products, Hazelnut in shell yields 2017-2021, FAOSTAT.
- TUIK (2022), Türkiye İstatistik Kurumu, istatistiksel veri portalı, Tarım, Bitkisel üretim istatistikleri 2022, Meyve ürünleri içecek ve baharat bitkileri üretim miktarları, hazelnut production in shell. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2022-45504>



Effects of a native diatomaceous earth on *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae), and *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae)

Oryzaephilus surinamensis (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae), ve *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae) üzerinde yerel diatom toprağının etkileri

Hilal SUSURLUK^{1*} , Alperen Kaan BÜTÜNER² 

^{1,2}Bursa Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bursa, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-8329-8855>; ²<https://orcid.org/0000-0002-2121-3529>

To cite this article:

Susurluk, H. & Bütüner, A. K. (2024). Effects of a native diatomaceous earth on *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae), and *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae). Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1):49-59
DOI: 10.29050/harranziraat.1383521

*Address for Correspondence:

Hilal SUSURLUK
e-mail:
hilalsusurluk@uludag.edu.tr

Received Date:

31.10.2023

Accepted Date:

30.01.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ABSTRACT

Pesticides are widely used to prevent damage caused by pests during the storage of agricultural products under warehouse conditions. However, in recent years, alternative methods for controlling pests have gained significance due to the emergence of toxic effects of pesticides on non-target organisms. Recently, Diatomaceous Earth (DE) is widely utilized for control storage pests. Therefore, it is considered that a local Diatomaceous Earth Almina could be used for the potential control of *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae). Almina® DE was applied at varying doses (125, 250, 500, 750, and 1000 ppm) (mg DE/ kg grains), and mortality rates were assessed at 24, 48, 72, and 96 hours. The highest mortality rates achieved were 100% for *O. surinamensis* after 96 hours with the 1000 ppm dose and for *A. obtectus* after 48 hours with doses of 500, 750, and 1000 ppm DE. In addition, the lowest LT₅₀ and LT₉₀ values were determined as 20.5, and 45.6 hours at 1000 ppm for *O. surinamensis*. For *A. obtectus*, LT₅₀ and LT₉₀ values at 250 and 125 ppm were 14.2 and 56.5 hours, and 51.4 and 95.7 hours, respectively. Consequently, Almina® DE can be considered a good alternative to synthetic chemicals to control two important stored product pests, *O. surinamensis* and *A. obtectus*.

Key Words: Diatomaceous earth, Effect, *Acanthoscelides obtectus*, *Oryzaephilus surinamensis*

Öz

Tarımsal ürünlerin depo koşullarında saklanması sırasında zararlı böceklerin ürün kaybına neden olmaması için yaygınlıkla pestisitler kullanılmaktadır. Ancak pestisitlerin hedef dışı organizmalar üzerinde oluşturduğu toksik etkilerin ortaya çıkması ile zararlılarla mücadelede alternatif yöntemler son yıllarda önem kazanmaktadır. Son yıllarda, depo zararlılarının kontrolünde Diatom Toprağı (DE) yaygınlıkla kullanılmaktadır. Bu nedenle *Oryzaephilus surinamensis* (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae) ve *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae)'un potansiyel kontrolü amacıyla yerel Almina® Diatom toprağı kullanılabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada 125, 250, 500, 750, 1000 ppm (mg DE/kg tahıl) dozunda DE belirtilen türlere uygulanmıştır. 24, 48, 72 ve 96 saat sonunda ölüm oranları belirlenmiştir. *O. surinamensis*'de elde edilen en yüksek ölüm

oranı 96 saat sonunda 1000 ppm doz uygulanan bireylerde 100%, *A. obtectus* içinse en yüksek ölüm oranı 48 saat sonra 500, 750 ve 1000 ppm DE uygulanan bireylerde 100% olarak belirlenmiştir. Ayrıca, *O. surinamensis* için en düşük LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri 1000 ppm de sırasıyla 20.5 ve 45.6 saat olarak belirlenmiştir. *A. obtectus* için 250 ve 125 ppm'deki LT₅₀ ve LT₉₀ değerleri ise sırasıyla 14.2 ve 56.5 saat ve 51.4 ve 95.7 saat olarak bulunmuştur. Sonuç olarak Almina® DE, iki önemli depolanmış ürün zararlısı *O. surinamensis* ve *A. obtectus* ile mücadelede sentetik kimyasallara iyi bir alternatif olarak düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler: Diatom toprağı, Etki, *Acanthoscelides obtectus*, *Oryzaephilus surinamensis*

Introduction

The increasing world population has heightened the importance of agricultural production and further emphasized the need for food (Gilland, 2002; Crist et al., 2017; Zsögön et al., 2022). Therefore, research on factors leading to product loss in agricultural fields and post-harvest storage conditions has been on the rise. Among the foremost factors causing reduced yield in agricultural fields and storage conditions are agricultural pests (Eickhout et al., 2006; García-Oliveira et al., 2022; Floret et al., 2023). Pesticides are one of the most commonly used products to protect agricultural products from post-harvest pests. However, in recent years, the determination of the toxic effects of pesticides used in chemical control on non-target organisms (such as bees, fish, and humans) has led to restrictions on their use in agricultural areas and storage conditions. Moreover, residues of pesticides used for pest control, especially under storage conditions, can directly reach humans. For this reason, alternative methods of chemical control have gained importance in recent years.

Oryzaephilus surinamensis (L., 1758) (Coleoptera: Silvanidae), also known as the Sawtoothed Grain Beetle, is a widely distributed insect species worldwide. It causes yield losses in various products such as grain crops, nuts, chocolate, and tobacco (Weston & Rattlingourd, 2000; Trematerra & Sciarretta, 2004; Nika et al., 2020; Abdel-Banat et al., 2023). Adults of this species can rapidly reproduce, especially in warm and humid conditions, leading to productivity losses in storage facilities. Female beetles can live for approximately 5-10 months under suitable conditions and can lay nearly 300 eggs during their lifespan (Arthur, 2000; Trematerra & Sciarretta,

2004; Nika et al., 2020; Nika et al., 2021). These eggs hatch within 2 to 3 days at 28°C. The larvae of this pest, like the adults, typically feed on grain kernels, contributing to productivity losses in storage conditions (Finkelman et al., 2006; Klys & Przystupinska, 2015).

Similarly, another species that causes yield losses in food products both in the field and in storage conditions is *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Chrysomelidae). This pest is commonly known to feed on bean seeds, but it also feeds on the seeds of peas, lentils, and many other leguminous plants. *A. obtectus* larvae feed by entering plant leaves and seeds (Papachristos & Stamopoulos, 2002; Parsons & Credland, 2003; Şen et al., 2020). These pests become adults in storage facilities, producing new generations and perpetuating their damage. Considering climatic conditions, *A. obtectus* can produce an average of 5 generations throughout the year. This pest diminishes product quality, yield, and the germination capacity of seeds by creating holes in the grains (Franco et al., 2005; Jovanović et al., 2007; Freitas et al., 2016; Hervet et al., 2023).

To control both pests, pesticides are widely used in storage conditions (Haddi et al., 2018). However, the use of pesticides in food products, especially after harvest, is restricted due to their toxic effects on non-target organisms. In addition, regulations implemented by the European Union in recent years have supported alternative methods to the use of pesticides (Bütüner & Susurluk, 2023).

Diatomaceous earth has become increasingly popular, particularly for controlling harmful insects in storage conditions. Diatomaceous earth (DE) is a type of natural soil obtained from the remains of fossilized algae (diatoms) found in marine or freshwater sources. DE has been used for pest

control purposes in storage conditions since the early 1930s (Quarles, 1992; Wakil et al., 2010; Bello et al., 2014; Zeni et al., 2021). It is known that DE particles adhere to the exoskeleton of insects, causing their death due to drying or dehydration. Additionally, studies have shown that DE causes abrasions of insect cuticles, leading to deformations and ultimately death in insects (Vayias et al., 2009; Shah & Khan, 2014; Korunić et al., 2020; Wakil et al., 2023).

Studies on the effect of diatomaceous earth on *O. surinamensis* and *A. obtectus* pests are quite limited. This study aims to determine the effectiveness of a local diatomaceous earth in the control of both pests. Therefore, this study is important for the potential control of *O. surinamensis* and *A. obtectus* pests.

Materials and Methods

Cultures of *Oryzaephilus surinamensis* and *Acanthoscelides obtectus*

The cultures of *O. surinamensis* and *A. obtectus* were cultivated in 2.5 L plastic containers in climate chambers maintained at $26\pm 2^{\circ}\text{C}$, $65\pm 5\%$ humidity. Cracked wheat grains served as the cultivation medium for *O. surinamensis*, while white, medium-sized Dermason variety bean grains were employed for the cultivation of *A. obtectus*, as documented in studies by Soares et al. (2015) and Hassan et al. (2020). Emerging adult mixed-sex individuals (< one week old) were used in the trials (Astuti et al., 2018). To achieve this

objective, containers were prepared with a population of 100 mixed-sex individuals aged 1-2 days. These containers were furnished with beans and cracked wheat for *A. obtectus* and *O. surinamensis*, respectively. After, approximately 7 days (for mating and egg-laying), all adult insects were extracted from the containers, allowing the laid eggs to develop into F₁ offspring. The progression of the culture was regularly monitored at two-day intervals, and experiments were initiated with newly emerged adults. Each trial was carried out under the above controlled atmosphere conditions and its continuity was ensured.

Diatomaceous earth

In this study, Almina® Diatomaceous Earth was utilized in a water-dispersible powder formulation, which is produced by a local company (Minitalya Mining Company, Antalya, Türkiye). The raw material for this compound is known to be obtained from regions rich in geothermal water sources. The general composition of the DE is as follows: 0.28% TiO₂, 85.97% SiO₂, 2.36% Al₂O₃, 0.66% CaO, 0.91% MgO, 2.61% Fe₂O₃, 0.75% K₂O, and less than 0.010% Na₂O (Argetest, Ankara, Türkiye). The average particle size of DE varies between 12-20 µm. Also, the particle shapes of the diatomaceous earth used are mixed (angular, oval, etc.) (Figure 1). In this study, different doses of the DE were mixed into bean and wheat grains.

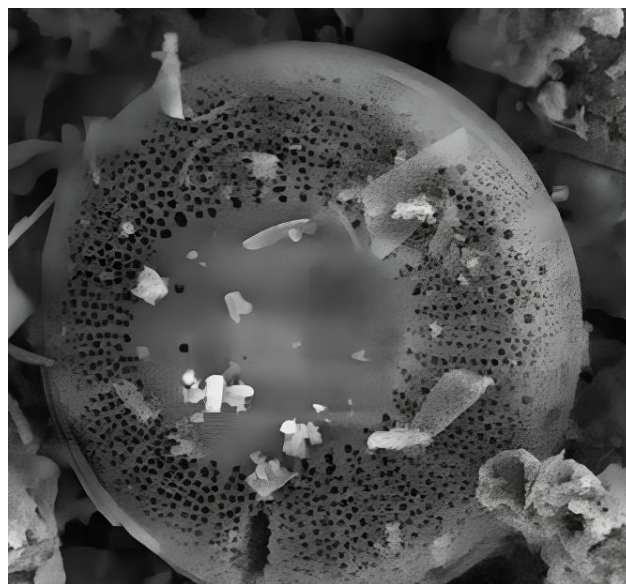


Figure 1. Electron microscope image of the general structure of the diatomaceous earth used in the study.

Experimental design

First of all, cracked wheat grains (30 g / replicate / dose rate) for *O. surinamensis*, and bean grains (30 g / replicate / dose rate) for *A. obtectus* were placed in small glass jars (6.5 cm in diameter, 7 cm in height) (Freitas et al., 2016). Then, 125, 250, 500, 750, and 1000 ppm (mg DE kg grains⁻¹) DE doses were added to these jars separately. Each jar was shaken by hand for approximately 2-3 minutes to ensure even distribution. In each jar, 20 adults of *O. surinamensis*, and *A. obtectus* used in the experiment were released. Then, lids with holes to facilitate air circulation were placed over the jars. Underneath these lids, filter papers were placed to prevent the insects from escaping. After 24, 48, 72, and 96 hours, the numbers of live and dead individuals in the jars were determined. As a control group, jars containing only wheat and bean grains were used, and adult individuals were released into them. Similarly, the numbers of live and dead individuals in the control group jars were observed after 24, 48, 72, and 96 hours. If an insect could not move when touched with a small brush, it was considered dead (Jovanović et al., 2007). The experimental setup adhered to a randomized parcel design, implemented with a minimum of three replications for each dose.

Statistical analyses

Cumulative mortality rates at 24, 48, 72 and 96 hours were analyzed using two-factor analysis of variance (ANOVA) and means were compared using LSD (Least Significant Differences) test ($P < 0.05$). ANOVA analysis was conducted using JMP®16.0 software, while the LT_{50} and LT_{90} values were determined using Probit analysis and Log-probit method (POLO-PLUS ver.2.0) (LeOra Software). All graphs were produced using GraphPad Prism® Version 8.0.1.

Results and Discussion

According to the obtained results, when examining the mortality of *O. surinamensis* adults under different doses and at different time intervals, the highest mortality for 24 hours was observed in individuals subjected to a dose of 1000 ppm of the DE. This rate was determined to be 60%. The mortality for 750, 500, 250, and 125 ppm for 24 hours were determined as 45, 45, 16.67 and 8.33%, respectively. In the control group (0 ppm), no mortality was observed. After 48 hours, the highest mortality was determined to be 91.67% at 1000 ppm. The mortality for other doses were 80.00, 61.67, 25.00, and 21.67% for 750, 500, 250, and 125 ppm, respectively. This value was obtained as 3.33% in the control group. When the mortality of individuals were examined at 72 hours, the highest mortality was observed in

individuals subjected to a dose of 1000 ppm. This rate was determined as 96.67%. At 750 ppm, this rate was 93.33%. For 500, 250, and 125 ppm, these values were determined as 88.33, 50.00, and 46.67%, respectively. For the control group, this value was found to be 10.00%. After 96 hours, all individuals subjected to a dose of 1000 ppm of DE

were found to have died (100%). The mortality for 750, 500, 250, and 125 ppm were determined as 96.67%, 86.67%, 71.67%, and 61.67%, respectively. For control group, this value was determined as 10.00% for 96 hours (Figure 2). The data exhibits statistically significant differences ($F = 39.06$; $df = 23, 48$; $p < 0.0001$).

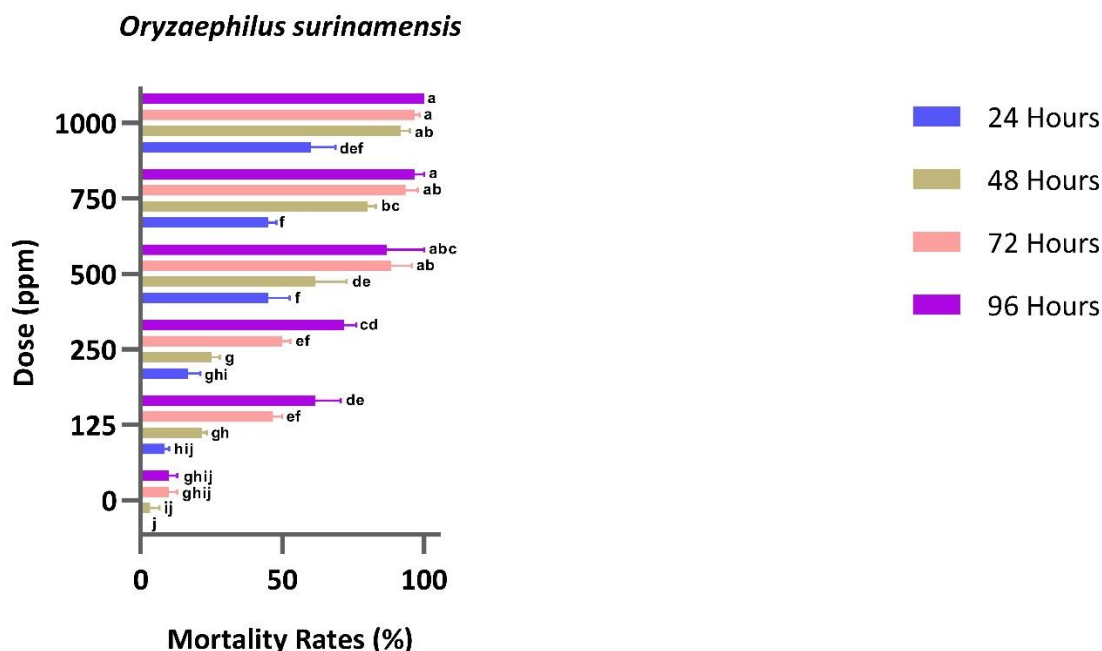


Figure 2. The mortality rates of *Oryzaephilus surinamensis* induced by Almina DE were examined. Statistical analysis was conducted separately for each species (Mean $\pm$ SE). Doses of the DE with the same letters following the means are not significantly different ($p < 0.05$).

When examining the mortality of *A. obtectus*, the highest mortality for 24 hours was determined to be 93.33% in individuals subjected to a dose of 1000 ppm of DE. For individuals exposed to a dose of 750 ppm of DE, this rate was determined to be 91.67%. The mortality for 500, 250, and 125 ppm were determined as 81.67, 75.00 and 10.00%, respectively. No dead individuals were encountered in the control group. After 48 hours, when the mortality for 1000, 750, and 500 ppm were examined, the mortality for these doses was determined to be 100%. For 250 and 125 ppm, these values were obtained as 90.00, and 31.67%, respectively. In the control group, no dead

individuals were encountered. When the mortality rates were examined at 72 hours, similar to the rates at 48 hours, the mortality rates for 1000, 750, and 500 ppm were determined to be 100%. For 250 and 125 ppm, these values were obtained as 95.00, and 78.33%, respectively. In the control group, the mortality rate was determined to be 1.67%. After 96 hours, the highest mortality rates were obtained for 1000, 750, 500, and 250 ppm, which were all 100%. For 125 ppm, this value was 93.33%, while in the control group, it was 3.33% (Figure 3). All of these data show statistically significant differences ($F = 215.82$; $df = 23, 48$; $p < 0.0001$).

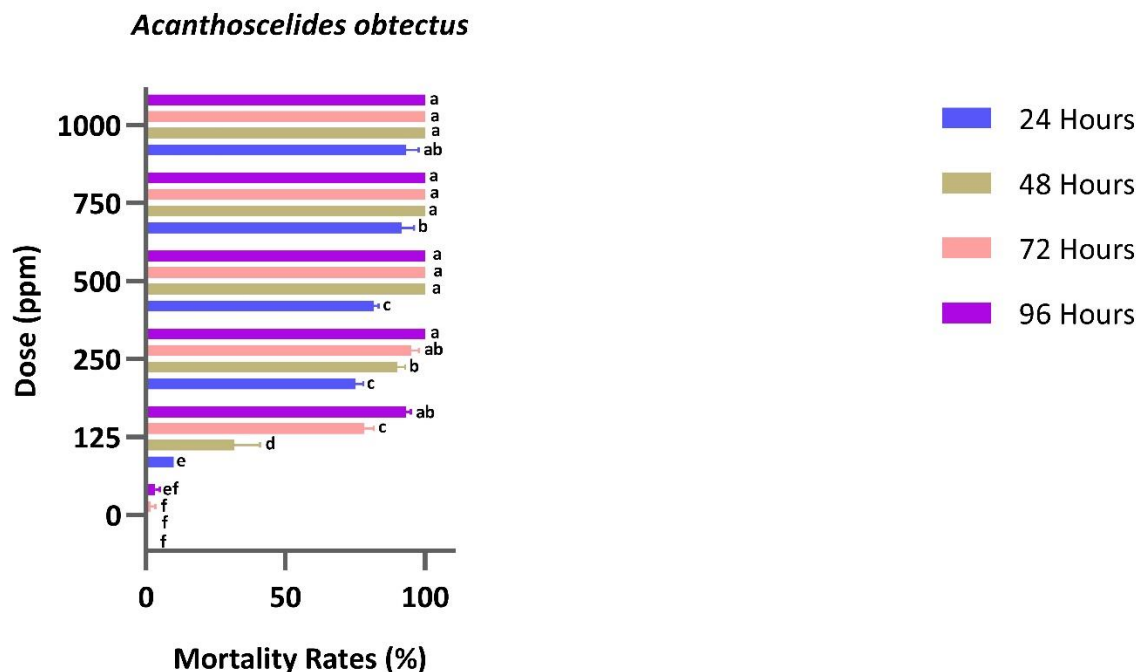


Figure 3. The mortality rates of *Acanthoscelides obtectus* induced by Almina DE were examined. Statistical analysis was conducted separately for each species (Mean $\pm$ SE). Doses of the DE with the same letters following the means are not significantly different ($p < 0.05$).

For the species that were subjected to testing, all primary factors (dosage and time) and their respective interactions (time $\times$ dose) were found

to be statistically significant with a p -value of less than 0.001 (Table 1).

Table 1. ANOVA parameters for the primary factors and their interactions related to the mortality rates of *Oryzaephilus surinamensis* and *Acanthoscelides obtectus*.

Species	<i>Oryzaephilus surinamensis</i>			<i>Acanthoscelides obtectus</i>		
Source	Df	F	p	df	F	p
Whole Model	23	39.06	<0.001	23	215.82	<0.001
Dose	5	128.66	<0.001	5	845.99	<0.001
Times	3	70.05	<0.001	3	96.91	<0.001
Dose x Times	15	2.99	0.0020	15	29.55	<0.001

Additionally, in this study, the LT_{50} and LT_{90} values of Almina DE used in different doses and on different species were determined. In *O. surinamensis*, the lowest LT_{50} value was observed at 1000 ppm at 20.551 hours. However, according to the fiducial limits, there was no difference in LT_{50} values between 1000, 750, and 500 ppm. The highest LT_{50} value for *O. surinamensis* was determined at a dose of 125 ppm (78.626 hours). However, the fiducial limits of LT_{50} values did not show a difference between 250, and 125 ppm. When LT_{90} values were examined, it was seen that there was no difference between 500, 250, and

125 ppm doses, and the lowest LT_{90} value was obtained at the highest 1000 ppm dose.

The LT_{50} and LT_{90} values could not be calculated for *A. obtectus* due to the very high mortality rate at doses of 1000, 750, and 500 ppm. (Table 2). LT_{50} value was 14.262 hours at 250 ppm. In other words, for *A. obtectus*, 50% of the adults tested at a dose of 250 ppm died in less than 24 hours. Similarly, 90% of *A. obtectus* adults died at approximately 57 hours (LT_{90} value) at the same dose. On the other hand, the highest LT_{50} (51.496 hours) and LT_{90} (95.749 hours) values were found at 125 ppm.

Table 2. The LT₅₀ and LT₉₀ values were determined for *Oryzaephilus surinamensis* and *Acanthoscelides obtectus*.

<i>O. surinamensis</i>				
Dose	Slope (±SE)	LT ₅₀ (95% Fiducial Limits)	LT ₉₀ (95% Fiducial Limits)	χ ² (df)
1000 ppm	3.699 (±0.609)	20.551 (15.023-24.792)	45.638 (39.176-56.429)	7.748 (10)
750 ppm	3.313 (±0.469)	26.282 (20.630-30.966)	64.045 (54.651-80.548)	8.957 (10)
500 ppm	2.573 (±0.410)	29.306 (12.605-40.419)	92.283 (64.304-279.752)	28.217 (10)
250 ppm	2.583 (±0.414)	68.197 (58.597-82.490)	213.791 (151.819-402.111)	9.077 (10)
125 ppm	2.929 (±0.460)	78.626 (68.183-95.636)	215.330 (156.191-386.773)	6.271 (10)
<i>A. obtectus</i>				
Dose	Slope (±SE)	LT ₅₀ (95% Fiducial Limits)	LT ₉₀ (95% Fiducial Limits)	χ ² (df)
1000 ppm*				
750 ppm*				
500 ppm*				
250 ppm	2.141 (±0.488)	14.262 (2.407-23.110)	56.591(41.500-108.978)	14.465 (10)
125 ppm	4.758 (±0.512)	51.496 (45.342-57.861)	95.749 (81.961-121.415)	12.095 (10)

* Not calculated; S.E. means Standard Error; LT means Lethal Time.

In this study, the effects of a local diatomaceous earth on two important stored product pests were evaluated under laboratory conditions. Based on the study, it was determined that the death rate of pests increased with an increase in DE dose in ppm and the duration of exposure of insects to DE (hours) in the control of *O. surinamensis* and *A. obtectus* adults. Therefore, this study holds promise for the potential control of these pests.

The sensitivity of different target species to diatomaceous earth applications also varies (Zeni et al., 2021). In the present study, 90% of mortality occurred in the bean weevil at a dose of 250 ppm within the first 48 hours. Time is of the essence as very small damages to stored products cause large economic losses. The high mortality seen in a short period has yielded very promising results in the control of this insect. Chireceanu et al., (2022) in their study, reached high mortality rates in beans treated with diatomaceous earth (900 ppm) only after 7 days. In their study, adult mortality rates were found to be 93, 96, and 98.5% in the Buzau, Bucharest, and Bacau populations, respectively.

Similarly, Gad et al., (2020) obtained a 93.88% mortality rate after 7 days when they applied the *Trichoderma harzianum* Rifai fungus together with diatomaceous earth (800 ppm of DE, and 2.1 x 10⁷ spores/kg of *T. harzianum*) to the bean weevil. Viteri Jumbo et al., (2019), similar to our study, stated that over 90% of mortality occurred in *A. obtectus* at temperatures above 30 °C (at 0.50 - 1 g/kg DE doses) within 48 hours. In the study conducted by Prasantha et al., (2019), similar to other studies, it was determined that an increase in DE dose resulted in an increased mortality rate among *A. obtectus* individuals. Inhibition of mating and rapid death ultimately means reduced damage to the crop. Therefore, the results obtained for bean weevil are very important.

In this study, mortality rates over 90% were observed in *O. surinamensis* at a dose of 750 ppm in 72 hours. A similar study conducted by Arthur (2000) exposed *O. surinamensis* adults to DE particles added to their food sources at different temperatures (22, 27, and 32 °C) for durations ranging from 4 to 72 hours. The results obtained

indicated that as the exposure duration to DE increased, mortality rates also increased. Similarly, in the study conducted by Baliota et al., (2022), as the dose rate and duration increased in *O. surinamensis*, the mortality rate also increased. While 13.3% of deaths occurred at 25 °C at the highest dose of 1000 ppm on day 1, this rate reached 100% on day 7. In a study by Ziaee et al., (2016), adult *O. surinamensis* was exposed to wheat, barley, and rice treated with DE doses of 300, 600, 1000, 1500, and 2000 ppm. On the 2nd, 5th, 10th, and 14th days, both dead and live individuals were recorded. The results showed that as the dose and duration of exposure to DE increased, there was an increase in mortality rates. At higher concentrations, wax adsorption and corrosivity caused by DE occur faster, resulting in faster deaths (Shams et al., 2011). In this regard, the results obtained from these studies are in line with the findings of the present study.

In general, since DE does not act quickly depending on the difference in environmental conditions and insect species, control of the pest may take a few days (Korunić et al., 2020). In our study, temperature and humidity values were found to be quite suitable for both stored product pests, and deaths were observed in a short time. *A. obtectus* adults were found to be more sensitive to the diatomaceous earth than *O. surinamensis*. Bello et al., (2006), in their study where they applied different combinations of DE and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, stated that *A. obtectus* was more sensitive to *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) in terms of both mortality rate and median lethal time values. In our study, the reason for this sensitivity is thought to be the mobility of the insect, apart from species differences. Insect mobility is a very important factor affecting the effectiveness of DE (Zeni et al., 2021). In the experiments, it was observed that *A. obtectus* adults were more mobile than *O. surinamensis* adults. The high mortality observed in *A. obtectus* may be due to the insect coming into contact with more DE due to its movement and therefore dying from water loss. Similarly, Rigaux et al., (2001) stated that

there was a direct relationship between insect activity and mortality rate when they applied diatomaceous earth to *Tribolium castaneum* (Herbst., 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae) races.

In a study conducted by Ziaee et al., (2007), five different DE dust formulations with varying particle sizes (5 µm, 8.2 µm, 11.7 µm, 8-12 µm, 13-15 µm) were mixed into the food sources of *O. surinamensis*, *T. castaneum*, and *Rhyzopertha dominica* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Bostrichidae) adults and the mortality rates of individuals were examined. The results revealed that the mortality of *O. surinamensis* individuals increased with the duration of exposure to DE doses. These findings align with the outcomes of the present study.

The effectiveness of DE depends on many parameters apart from the applied target species and insect mobility as mentioned above. The most important component of diatomaceous earth, and associated with its insecticidal effect is its silicon dioxide content (Korunić, 1997; Iatrou et al., 2010). The SiO₂ content used in this study (85.97%) is quite high, and the insecticidal effect seen on both stored product pests may be related to the SiO₂ content. In addition, the insect's eating speed, cuticle waxes, adhesion of DE to the cuticles and the food it eats, and water absorption from the hindgut (Korunić & Fields, 2006; Shams et al., 2011) are other factors that play a significant role in the effectiveness of DE. These factors should also be studied in future studies.

In recent years, regulations have been imposed to limit the use of pesticides in agricultural fields and storage facilities for chemical pest control due to the toxic effects of pesticides on non-target organisms. One of the main reasons for these restrictions is the residues of pesticides on stored products, which can directly impact human health. In this regard, the use of Almina DE in storage conditions holds promise as an alternative for pest control. This study has achieved a high level of success in controlling *O. surinamensis*, and *A. obtectus* adults under laboratory conditions using Diatomaceous earth. With effective research and studies in the coming years, diatomaceous earth is

expected to be used extensively in storage conditions.

Conflict of Interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Authors' Contribution: HS designed the study and set up the experiments, HS and AKB conducted the study, HS and AKB analyzed the data, and HS and AKB wrote the article.

References

- Abdel-Banat, B. M. A., El-Shafie, H. A. F., & Boukhwa, I. A. (2023). Screening date cultivars for resistance against the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* L.(Coleoptera: Silvanidae). *Journal of Stored Products Research*, 102, 102120. doi: 10.1016/j.jspr.2023.102120
- Arthur, F. H. (2000). Immediate and delayed mortality of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) exposed on wheat treated with diatomaceous earth: effects of temperature, relative humidity, and exposure interval. *Journal of Stored Products Research*, 37(1), 13-21. doi: 10.1016/S0022-474X(99)00058-2
- Astuti, L. P., Mario, M. B., & Widjayanti, T. (2018). Preference, growth and development of *Oryzaephilus surinamensis* (L.)(Coleoptera: Silvanidae) on red, white and black rice in whole grain and flour form. *Journal of Entomological Research*, 42(4), 461-468. doi: 10.5958/0974-4576.2018.00077.4
- Baliota, G. V., Lampiri, E., & Athanassiou, C. G. (2022). Differential effects of abiotic factors on the insecticidal efficacy of diatomaceous earth against three major stored product beetle species. *Agronomy*, 12(1), 156. doi: 10.3390/agronomy12010156
- Bello, G., Padín, S., Juárez, P., Pedrini, N., & De Giusto, M. (2006). Biocontrol of *Acanthoscelides obtectus* and *Sitophilus oryzae* with diatomaceous earth and *Beauveria bassiana* on stored grains. *Biocontrol Science and Technology*, 16(2), 215-220. doi: 10.1080/09583150500336010
- Bello, O. S., Adegoke, K. A., & Oyewole, R. O. (2014). Insights into the adsorption of heavy metals from wastewater using diatomaceous earth. *Separation Science and Technology*, 49(12), 1787-1806. doi: 10.1080/01496395.2014.910223
- Bütüner, A. K. & Susurluk, A. (2023). Türk Entomopatogen Nematodların, *Steinernema feltiae* ve *Steinernema carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) Piring Biti *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) Üzerinde Patojenisitesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 10(3), 541-547. doi: 10.30910/turkjans.1295616.
- Chireceanu, C., Cardei, P., Geicu, A., Florescu, I., Burnichi, F., & Călin, M. (2022). Insecticidal effect of pătârlagele diatomaceous earth against *Acanthoscelides obtectus* adults. *Romanian Agricultural Research*, 39, 649-659.
- Crist, E., Mora, C., & Engelman, R. (2017). The interaction of human population, food production, and biodiversity protection. *Science*, 356(6335), 260-264. doi: 10.1126/science.aal2011
- Eickhout, B., Bouwman, A. V., & Van Zeijts, H. (2006). The role of nitrogen in world food production and environmental sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 116(1-2), 4-14. doi: 10.1016/j.agee.2006.03.009
- Finkelman, S., Navarro, S., Rindner, M., & Dias, R. (2006). Effect of low pressure on the survival of *Trogoderma granarium* Everts, *Lasioderma serricorne* (F.) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.) at 30 C. *Journal of Stored Products Research*, 42(1), 23-30. doi: 10.1016/j.jspr.2004.09.001
- Floret, C., Monnet, A. F., Micard, V., Walrand, S., & Michon, C. (2023). Replacement of animal proteins in food: How to take advantage of nutritional and gelling properties of alternative protein sources. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(7), 920-946. doi: 10.1080/10408398.2021.1956426
- Franco, O. L., Melo, F. R., Mendes, P. A., Paes, N. S., Yokoyama, M., Coutinho, M. V., Bloch, C. & Grossi-de-Sá, M. F. (2005). Characterization of two *Acanthoscelides obtectus* α-amylases and their inactivation by wheat inhibitors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1585-1590. doi: 10.1021/jf049343x
- Freitas, R. S., Faroni, L. R. A., & Sousa, A. H. (2016). Hermetic storage for control of common bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 66(2), 1-5. doi: 10.1016/j.jspr.2015.12.004
- Gad, H. A., Al-Anany, M. S. M., Mohamed Sameer, W., & Al-Anany, F. S. M. (2020). Control of *Acanthoscelides obtectus* with *Trichoderma harzianum* applied alone or in combination with diatomaceous earth on a stored common bean. *Plant Protection Science*, 56(2): 107-115. doi: 10.17221/104/2019-PPS
- García-Oliveira, P., Fraga-Corral, M., Pereira, A. G., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2020). Solutions for the sustainability of the food production and consumption system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(7), 1765-1781. doi: 10.1080/10408398.2020.1847028
- Gilland, B. (2002). World population and food supply: can food production keep pace with population growth in the next half-century? *Food Policy*, 27(1), 47-63. doi: 10.1016/S0306-9192(02)00002-7
- Haddi, K., Viteri Jumbo, L. O., Costa, M. S., Santos, M. F., Faroni, L. R. A., Serrão, J. E., & Oliveira, E. E. (2018). Changes in the insecticide susceptibility and physiological trade-offs associated with a host change in the bean weevil *Acanthoscelides obtectus*. *Journal of Pest Science*, 91(1), 459-468. doi: 10.1007/s10340-017-0860-1
- Hassan, H. H., Zinhoum, R. A., & Kassem, E. M. (2020). Suitability of different types of food stuffs for mass rearing of rice moth, *Corcyra cephalonica* (stainton) and saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.) under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 98(2), 288-

- 301.
- Hervet, V. A., Fields, P. G., Hamilton, K. D., Nadimi, M., & Paliwal, J. (2023). Cold tolerance of *Acanthoscelides obtectus*, the bean weevil: Effects of cold acclimation, life stage and strain. *Journal of Stored Products Research*, 104, 102169. doi: 10.1016/j.jspr.2023.102169
- Iatrou, S. A., Kavallieratos, N. G., Palyvos, N. E., Buchelos, C. T., & Tomanović, S. (2010). Acaricidal effect of different diatomaceous earth formulations against *Tyrophagus putrescentiae* (Astigmata: Acaridae) on stored wheat. *Journal of Economic Entomology*, 103(1), 190-196. doi: 10.1603/EC08213
- Jovanović, Z., Kostić, M., & Popović, Z. (2007). Grain-protective properties of herbal extracts against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. *Industrial Crops and Products*, 26(1), 100-104. doi: 10.1016/j.indcrop.2007.01.010
- Klys, M., & Przystupinska, A. (2015). The mortality of *Oryzaephilus surinamensis* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Silvanidae) induced by powdered plants. *Journal of Plant Protection Research*, 55(1), 110-116.
- Korunić, Z. & Fields, P. (2006). Susceptibility of three species of *Sitophilus* to diatomaceous earth. *9th International Working Conference on Stored Product Protection*, (pp. 681-686), 15-18 October 2006, Sao Paulo, Brazil.
- Korunić, Z. (1997). Rapid assessment of the insecticidal value of diatomaceous earths without conducting bioassays. *Journal of Stored Products Research*, 33(3), 219-229. doi: 10.1016/S0022-474X(97)00004-0
- Korunić, Z., Liška, A., Lucić, P., Hamel, D., & Rozman, V. (2020). Evaluation of diatomaceous earth formulations enhanced with natural products against stored product insects. *Journal of Stored Products Research*, 86, 101565. doi: 10.1016/j.jspr.2019.101565
- LeOra Software, 1994. POLO-PC: a user's guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley, CA, p. 28.
- Nika, E. P., Kavallieratos, N. G., & Papanikolaou, N. E. (2020). Developmental and reproductive biology of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) on seven commodities. *Journal of Stored Products Research*, 87, 101612. doi: 10.1016/j.jspr.2020.101612
- Nika, E. P., Kavallieratos, N. G., & Papanikolaou, N. E. (2021). Linear and non-linear models to explain influence of temperature on life history traits of *Oryzaephilus surinamensis* (L.). *Entomologia Generalis*, 41(2), 157-167. doi: 10.1127/entomologia/2020/1088
- Papachristos, D. P., & Stamopoulos, D. C. (2002). Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(4): 365-373. doi: 10.1016/S0022-474X(01)00038-8
- Parsons, D. M., & Credland, P. F. (2003). Determinants of oviposition in *Acanthoscelides obtectus*: a nonconformist bruchid. *Physiological Entomology*, 28(3), 221-231. doi: 10.1046/j.1365-3032.2003.00336.x
- Prasanth, B. R., Reichmuth, C. H., & Adler, C. (2019). Lethality and kinetic of diatomaceous earth uptake by the bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* [Say] Coleoptera: Bruchinae): Influence of short-term exposure period. *Journal of Stored Products Research*, 84, 101509. doi: 10.1016/j.jspr.2019.101509
- Quarles, W. (1992). Diatomaceous earth for pest control. *IPM practitioner*, 14 (5/6), 1-11.
- Rigaux, M., Haubruge, E., & Fields, P. G. (2001). Mechanisms for tolerance to diatomaceous earth between strains of *Tribolium castaneum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 101(1), 33-39. doi: 10.1046/j.1570-7458.2001.00888.x
- Şen, K., Koca A. S. & Kaçar, G. (2020). Fasulye Tohum Böceği *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Chrysomelidae)'un Önemi, Biyolojisi, Zararı ve Mücadelesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(3), 1518-1527. doi: 10.21597/jist.705681
- Shah, M. A. & Khan, A. A. (2014). Use of diatomaceous earth for the management of stored-product pests. *International Journal of Pest Management*, 60(2), 100-113. doi: 10.1080/09670874.2014.918674
- Shams, G., Safaralizadeh, M. H., & Imani, S. (2011). Insecticidal effect of diatomaceous earth against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) and *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) under laboratory conditions. *African Journal of Agricultural Research*, 6(24), 5464-5468. doi: 10.5897/AJAR11.1188
- Soares, M. A., Quintela, E. D., Mascarin, G. M., & Arthurs, S. P. (2015). Effect of temperature on the development and feeding behavior of *Acanthoscelides obtectus* (Chrysomelidae: Bruchinae) on dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, 61, 90-96.
- Trematerra, P. & Sciarretta, A. (2004). Spatial distribution of some beetles infesting a feed mill with spatio-temporal dynamics of *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *Journal of Stored Products Research*, 40(4), 363-377. doi: 10.1016/S0022-474X(03)00027-4
- Vayias, B. J., Athanassiou, C. G., Korunić, Z., & Rozman, V. (2009). Evaluation of natural diatomaceous earth deposits from south-eastern Europe for stored-grain protection: the effect of particle size. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 65(10), 1118-1123. doi: 10.1002/ps.1801
- Viteri Jumbo, L. O., Pimentel, M. A., Oliveira, E. E., Toledo, P. F., & D'Antonino Faroni, L. R. (2019). Potential of diatomaceous earth as a management tool against *Acanthoscelides obtectus* infestations. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 36(SPE), 42-51. doi: 10.22267/rcia.1936E.105
- Wakil, W., Ashfaq, M., Ghazanfar, M. U., & Riasat, T. (2010). Susceptibility of stored-product insects to enhanced diatomaceous earth. *Journal of Stored Products Research*, 46(4), 248-249. doi: 10.1016/j.jspr.2010.05.001
- Wakil, W., Kavallieratos, N. G., Nika, E. P., Ali, A., Yaseen, T., & Asrar, M. (2023). Two are better than one: the combinations of *Beauveria bassiana*, diatomaceous earth, and indoxacarb as effective wheat protectants. *Environmental Science and Pollution Research*, 30(14), 41864-41877. doi: 10.1007/s11356-022-25075-1
- Weston, P. A., & Rattlingourd, P. L. (2000). Progeny production by *Tribolium castaneum* (Coleoptera:

- Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) on maize previously infested by *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(2), 533-536. doi: 10.1603/0022-0493-93.2.533
- Zeni, V., Baliota, G. V., Benelli, G., Canale, A., & Athanassiou, C. G. (2021). Diatomaceous earth for arthropod pest control: Back to the future. *Molecules*, 26(24), 7487-7515. doi: 10.3390/molecules26247487
- Ziaee, M., & Khashaveh, A. (2007). Effect of five diatomaceous earth formulations against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae). *Insect Science*, 14(5), 359-365. doi: 10.1111/j.1744-7917.2007.00162.x
- Ziaee, M., Atapour, M., & Marouf, A. (2016). Insecticidal efficacy of Iranian diatomaceous earths on adults of *Oryzaephilus surinamensis*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 18(2), 361-370.
- Zsögön, A., Peres, L. E., Xiao, Y., Yan, J., & Fernie, A. R. (2022). Enhancing crop diversity for food security in the face of climate uncertainty. *The Plant Journal*, 109(2), 402-414. doi: 10.1111/tpj.15626



Bitkilerde kalite ve kantite kaybına neden olan *Alternaria alternata*'ya karşı bazı fungusitlerin in vitro etkinlikleri

In vitro efficacy of some fungicides against Alternaria alternata causing quality and quantity loss in plants

Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR^{1*}, Murat DİKİLİTAŞ², Berfin KILINÇ³

^{1,2,3}Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Şanlıurfa 63300, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0002-3374-5602>; ²<https://orcid.org/0000-0002-7399-4750>; ³<https://orcid.org/0000-0002-7086-0255>

To cite this article:

Güldür, M., Dikilitaş, M. & Kılınç, B. (2024). Bitkilerde kalite ve kantite kaybına neden olan *alternaria alternata*'ya karşı bazı fungusitlerin in vitro etkinlikleri. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 60-69
DOI: 10.29050/harranziraat.1325585

*Address for Correspondence:

Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR
e-mail: mguldur@harran.edu.tr

Received Date:

12.07.2023

Accepted Date:

09.11.2023

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ÖZ

Orman ağaçları ile sebze ve meyvelerde önemli kayıplara yol açan *Alternaria alternata*, ruhsatlı fungusitler ile kontrol edilmek istenmesine rağmen arzu edilen sonuç elde edilememektedir. Bu çalışmada etmene karşı bazı fungusitlerin aktif maddeleri (Fosforoz asit (D*), Thiophanate methyl + Tetraconazole (Y*), Pyraclostrobin + Fluxapyroxad (P*), Metrafenone (V*), Azoxystrobin + Propiconazole (As), Azoxystrobin + Cyproconazole (Ar)) ile bunların çeşitli kombinasyonları test edilmiştir. Çalışmada tüm fungusitlerin arazi koşullarındaki dozları (mg L⁻¹) kullanılmış ve her uygulama dört tekerrürlü olarak yapılmıştır. Saf olarak Patates Dekstroza Agar (PDA) ortamında geliştirilen *A. alternata* izolatlarından elde edilen miselyal diskler (9 mm çap) ilgili fungusit solüsyonlarına 45 saniye süre ile batırılmış ve PDA ortamına aktarılmıştır. Çalışmada izolatların miselyal gelişme çapları iki gün ara ile ölçülmüş ve deneme sonunda izolatların fungusitlere karşı gösterdikleri % engellenme oranları hesaplanmıştır. *A. alternata*'nın 18 günlük gelişimi sonucu misel engelleme oranı en etkili bulunan fungusitler sırası ile %90.6 ile P*, %88.5 ile Ar*, %84.8 ile As, %71.8 ile Y* bulunurken en az etkili bulunan fungusitler ise %7.2 ile V* ve %37.4 ile D* olmuştur. Etmene karşı mücadelede *in vitro* koşullarda etkili bulunan fungusitlerin arazi koşullarında da etkili olabileceği ümitvar görülmüştür. Ayrıca P* ve Ar* aktif maddeli fungusitlerin karışımı, bu fungusitlerin tekli uygulanması ile kıyaslanmış, fungusit kombinasyonlarının etkinliği tartışılmıştır. *A. alternata*'ya karşı bu aktif maddelerin ruhsatlı olmaması ve alternatif fungusitlerin etkinliklerinin bilinmemesi, geniş konukçu kitlesine sahip olan ve farklı orman ve meyve ağaçları ile sebzeleri enfekte edebilen patojenin kimyasal mücadelesi üzerinde durulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Alternaria alternata*, fungusit, % etki, kombinasyon, Petri çapı

ABSTRACT

The control of *A. alternata*, causes significant losses in forest trees, vegetables and fruits, with registered fungicides cannot provide the desired effect. In this study, active ingredients of new generation fungicides (Phosphorus acid (D*), Thiophanate methyl + Tetraconazole (Y*), Pyraclostrobin + Fluxapyroxad (P*), Metrafenone (V*), Azoxystrobin + Propiconazole (As), Azoxystrobin + Cyproconazole (Ar)) and various combinations there of were tested. In the study, the doses of all fungicides in field conditions (mg L⁻¹) were used and each application was made with four replications. *A. alternata* grown on pure Potato Dextrose Agar (PDA) medium. Mycelial discs (9 mm diameter) obtained from isolates were immersed in the relevant fungicide solutions for 45 seconds and transferred to PDA medium. In the study, mycelial growth diameters of the isolates were measured with an interval of two days, and at the end of the experiment, the %

inhibition rates of the isolates against fungicides were calculated. As a result of the 18-day development of *A. alternata*, the most effective fungicides with mycelial inhibition rate were P* with 90.6%, 88%, respectively. Ar* with 5, As with 84.8%, Y* with 71.8%, the least effective fungicides were V* with 7.2% and D* with 37.4%. It is hoped that fungicides, which are found to be effective in the fight against the agent *in vitro*, can also be effective in field conditions. In addition, the mixture of fungicides with P* and Ar* active substances was compared with the single application of these fungicides, and the effectiveness of the fungicide combinations was discussed. The fact that these active substances are not registered against *A. alternata* and the efficacy of alternative fungicides is not known, the chemical control of the pathogen, which has a wide host range and can infect different forest and fruit trees and vegetable crops, has been emphasized.

Key Words: *Alternaria alternata*, fungicide, % effect, combination, Petri diameter

Giriş

Kozmopolit saprofit fungal patojenlerinden olan ve Pleosporaceae familyasına ait Alternaria alternata çok sayıda ürünü enfekte ederek en az %20 verim kayıplarına neden olmaktadır (Sanchez-Garcia ve ark., 2020). *Alternaria* spp. insan ve hayvan ortamları dahil olmak üzere hemen hemen her ortamda bulunan funguslardır (Patriarca, 2016). *Alternaria* spp. düşük besinli ortamlarda gelişimine devam edebildiği gibi bu koşullarda ilave enerjiye ihtiyaç duyulmaksızın hastalık oluşturabilmektedir (Brambilla ve ark., 2020). *A. alternata*'nın 100'den fazla konukçu bitkide hastalığa neden olduğu kaydedilmiştir (Deshieldsve ark., 2021). *A. alternata* doğrudan ürün kaybı, hasat sonrası bozulma veya mikotoksinler yolu ile kalite ve kantite kaybına neden olarak insan ve hayvan sağlığı üzerinde de olumsuz etkiye sahiptirler (da Cruz Cabral ve ark., 2019). *A. alternata* uygun koşullarda çimlenen konidileri ile *appresorium* oluşturarak seluloz içeren bitki hücre duvarlarını parçalama yeteneğine sahiptir (Mohan ve ark., 2015). *Alternaria* enfeksiyonları genellikle konukçu bitkinin yapraklarında ve gövdelerinde görülür (Tralamazza ve ark., 2018). Yaprak lekeleri, klorotik halelerle çevrili siyah nekrotik lezyonlarla spesifiktir. Yaprak nekrozu, yaprağı tüketilen sebzelerin pazarlanabilirliğinin azalmasına neden olabilir. Ayrıca meyve ağaçlarında, fotosentez alanını daraltarak verim kaybına neden olabilir (Schiro ve ark., 2018). *Alternaria* spp. meyveler üzerinde lekeler ve ayrıca hasat sonrası kayıplara da neden olmaktadır (Moretti ve ark., 2017; Tomas ve ark., 2019). Güney Afrika'daki Red Delicious elma çeşitlerinde meydana gelen yıllık %6-8'lik

kayıpların *Alternaria* kuru çürüklüğünden kaynaklandığı rapor edilmiştir. Etmen depolanmış ürünler üzerinde de etkili olmaktadır. Buğday danelerinde tarla ve depo koşullarında gelişim gösterdiği bilinmektedir (Barkat ve ark., 2016). Depo koşullarında fungusun mikotoksin ürettiği de bildirilmiştir (Colovic ve ark., 2019). Mikotoksinler, funguslar tarafından üretilen seçici toksinler olup *Alternaria* spp.'den 30 farklı toksin tanısı yapılmıştır. *A. alternata*'nın ise Alternariol Monometil Eter (AME), Alternariol (AOH), Altartoxin I (ATX-I), Altartoxin II (ATX-II), Altartoxin III (ATX-III) mikotoksinleri ürettiği ve *Alternaria*'nın en çok mikotoksin üreten türü olduğu bildirilmiştir (Kaya ve Zorba, 2021). *Alternaria* mikotoksinleri meyve ürünleri ve meyve suları ile buğday ve bitkisel yağlar gibi ürünlerde tespit edilmiştir (Mujahid ve ark., 2020). Kontaminasyondan sorumlu türlerin genellikle *A. infectoria* veya *A. alternata* olduğu bildirilmektedir (Escriva ve ark., 2017). *Alternaria* cinsi ve özellikle *A. alternata* türü, ayrıca alerji, astım ve kronik rinosinüzit gibi insan solunum yolu hastalıkları ile sıklıkla ilişkilendirilmiştir (Barac ve ark., 2018). Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda akciğer veya deri altı enfeksiyonları yaptığı rapor edilmiştir (Puvaca, ve ark., 2020).

Alternaria etmenleri bitkilerde önemli kayıplara yol açtığı gibi insan ve hayvanlarda da çeşitli enfeksiyonlara neden olduğundan bu etmenin mücadelesinde her yaklaşım ciddiyetle ele alınmalı, etmenin erken safhada elimine edilmesi toksin üretim potansiyeli açısından büyük önem arz etmektedir.

Hastalığı etkili bir şekilde kontrol altına almak için büyüme mevsimi boyunca çoklu fungusit uygulamaları tavsiye edilmiştir (Rosenzweig ve

ark., 2008; Horsfield ve ark., 2010). Ancak bu durumun çevre sorunu yanında fungusit duyarlılığının azalmasına da yol açtığı unutulmamalıdır. Örneğin, Boscalid adlı fungusit, 2003 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde ve 2008'de Almanya'da patateslerde erken yanıklığın kontrolü için tescil edilmiş ve o zamandan beri düzenli olarak uygulanmaktadır. Ancak, 2009 yılında ilk kez ABD Idaho'da *Alternaria solani*'de Boscalid direnci tespit edilmiştir. (Wharton ve ark., 2012). *A. solani* fungusit duyarlılığının kısmi kaybına ek olarak (Leiminger ve ark., 2014), Boscalide karşı direnç raporları da artmıştır (Gudmestad ve ark., 2013). Yine bir diğer çalışmada Boscalid bazlı fungusitlerin 'Endura® (%70 boscalid) ve Pristine® (%25.2 boscalid ve %12.8 piraclostrobin)' 2003 yılında Kaliforniya'da fıstık ağaçlarında ve diğer çalışmalarda etkinliğini kaybettiği belirlenmiştir (Avenot ve Michailides, 2007). Akdeniz iklim bölgelerinde, domates ekim alanlarında görülen *Alternaria solani*'ye karşı yapılan bir çalışmada, maneb ve mancozeb aktif maddeleri yüksek oranda etki gösterirken captan, thiram ve propineb aktif maddelerinin daha az oranda etki gösterdiği saptanmıştır (Delen ve ark., 1991). Turunçgil kahverengi yaprak lekesi (*Alternaria alternata citri*)'ne karşı yapılan bir fungusit direnç çalışmasında ise Iprodione, Propineb,

Proxymidone ve Propiconazole etken maddelerinin ilk zamanlarda başarılı sonuçlar verdiği fakat sık kullanımı ile birlikte belirli bir süre sonra direnç sorunu oluşturduğu tespit edilmiştir (Yüksel ve Erkılıç, 2014).

Bu çalışmada ele alınan etken maddeli fungusitlerin laboratuvar koşullarında *A. alternata*'nın gelişimine etkileri tespit edilmiş, kombinasyonları ile kullanım potansiyelleri belirlenmiştir.

Materyal ve yöntem

Bu çalışma Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü Fitopatoloji laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmanın ana materyalini laboratuvardaki kültür stoğunda bulunan, meyve ağaçlarından izole edilen *A. alternata* ve 400 g/L Fosforoz asit (D*), 233 g/L Thiophanate-methyl + 70 g/L Tetraconazole (Y*), 150 g/L Pyraclostrobin + 75 g/L Fluaxapyroxad (P*), 500 g/L Metrafenone (V*), 62,5 g/L Propiconazole + 37,5 g/L Azoxystrobin+ (As*), 200 g/L Azoxystrobin + 80 g/L Cyproconazole (Ar*) aktif maddeli 6 adet fungusit oluşturmaktadır (Çizelge 1).

Çizelge 1 Çalışmada kullanılan fungusitlerin etken maddeleri, etkili madde oranları ve özellikleri

Table 1 Active ingredients, effective ingredient ratios and properties of fungicides used in the study

Formülasyon <i>formulation</i>	Etken madde ve oranları <i>Active ingredient and rates</i>	Arazi Dozları (ml/L) <i>Field Doses (ml/L)</i>	Ticari isimler <i>trade names</i>
SL (Suda Çözünen Konsantre)	400 g/l Fosforoz Asit	4 ml/L	D*
EC (Emülsiyon Konsantre)	150 g/l Pyraclostrobin + 75 g/l Fluaxapyroxad	0.8 ml/L	P*
SE (Suspo-EmülsiyonKonsantre)	233 g/l Thiophanate-methyl + 70 g/l Tetraconazole	1.6 ml/L	Y*
SC (Akıcı Konsantre/Süspansiyon Konsantre)	500 g/l Metrafenone	0.2 ml/L	V*
SC (Akıcı Konsantre/Süspansiyon Konsantre)	62.5 g/l Propiconazole + 37.5 g/l Azoxystrobin	2ml/L	As*
SC (Süspansiyon konsantre)	200 g/l Azoxystrobin + 80 g/l Cyproconazole	1 ml/L	Ar*

* Fungisitlerin tam ticari adları markaların ticari özlük hakları gerekçesi ile verilmemiştir.

Fungusların tek spor izolasyonu

A. alternata etmenine ait saf koloni elde etmek için stoktaki kültürden miseller alınmış ve antibiyotik (tetracycline) içeren PDA (Patates Dekstroz Agar; 39 g PDA/1 litre distile su) ortamına transfer edilmiştir (Kılınç, 2021). Petri kapları, 25°C'de 14 gün süre ile karanlık ortamda inkube edilmiştir. Tek spor izolasyon tekniği ile gelişmiş hiflerden küçük bir parça alınarak PDA ortamına ekimleri yapılmış ve tek spordan saf olarak gelişen kültürler *in vitro* fungusit çalışması için kullanılmıştır (Dikilitaş, 2003).

Fungus izolatlarının muhafazası

Saf olarak elde edilen fungal izolatlardan alınan miselyal diskler (3 mm çap) PDA ortamı içeren Petri kaplarının içine yerleştirilmiş olan steril Whatman kağıtlarının üzerine yerleştirilerek 25±2°C'de 14 gün boyunca inkubasyona bırakılmıştır. Inkubasyon sonunda üzeri fungus ile kaplı olan Whatman kağıdı steril pens yardımı ile ortamdan alınıp steril Petri kapları içinde 3 gün boyunca inkubatörde kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan izolatlar steril kağıt zarfların içine konularak -20°C'de muhafaza edilmiştir. Ayrıca saf kültürden elde edilen miseller Eppendorf (1.5 mL) tüplere alınmış ve üzeri %15'lik gliserol stoğundan alınan 500 µL solusyon ile kaplanmış ve -20°C'de muhafaza edilmiştir.

Alternaria alternata etmenine karşı bazı fungusitlerin etkinliği

Çalışmada ele alınan 400 g/L Fosforoz Asit (D*), 150 g/L Pyraclostrobin + 75 g/L Fluaxapyroxad (P*), 233 g/L Thiophanate-methyl + 70 g/L Tetraconazole (Y*), 500 g/L Metrafenone (V*), 62.5 g/L Propiconazole + 37.5 g/L Azoxystrobin (As*) ve 200 g/L Azoxystrobin + 80 g/L Cyproconazole (Ar*) fungusitlerinin arazi dozları mL⁻¹ düzeyinde hesaplanıp Petrilere aktarılmıştır. *A. alternata* miselleri bir mantar delici (9 mm) ile ana stoktan alınmış ve ilgili bu fungusit solusyonlarına 45 saniye batırılarak PDA ortamı içeren Petrilerin merkezine yerleştirilmiştir. Fungal diskler fungusit içeren PDA ortamına alınmamış, tarla ve bahçedeki doğal durumu simule etmek için

45 saniye süre ile ilgili fungusit solusyonuna daldırmak sureti ile muamele edilmiştir (Dr. Murat Dikilitaş ile kişisel görüşme, Mayıs 2023 – otomasyona bağlı bahçe ve tarla ilaçlamalarında bitkiler üzerine hedeflenen kimyasalın miktarının yaklaşık 45 saniye süre içinde verildiği ve sonraki parsellere geçildiği tespit edilmiştir). Kontrol grubu için diskler steril distile suya batırılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre 4 tekerürlü olarak yapılmıştır. Petriler 25°C'de karanlıkta, kontrol grubuna ait Petri kaplarındaki miseller Petrilerin tamamını kaplayana kadar inkube edilmişlerdir. İki günde bir Petrilerde gelişen misellerin çapları yatay ve dikey şekilde ölçülüp çap ortalamaları alınmıştır. Deney sonunda Petrilerinde gelişen misellerin % etki değerleri Townsend-Heuberger Formülü'ne göre (1) fungusitli Petrilerdeki gelişme oranlarının kontrol grubuna oranı ile hesaplanmıştır (Townsend ve Heuberger, 1943).

$$\text{Yüzde Etki} = (A-B)/A \times 100$$

(1)

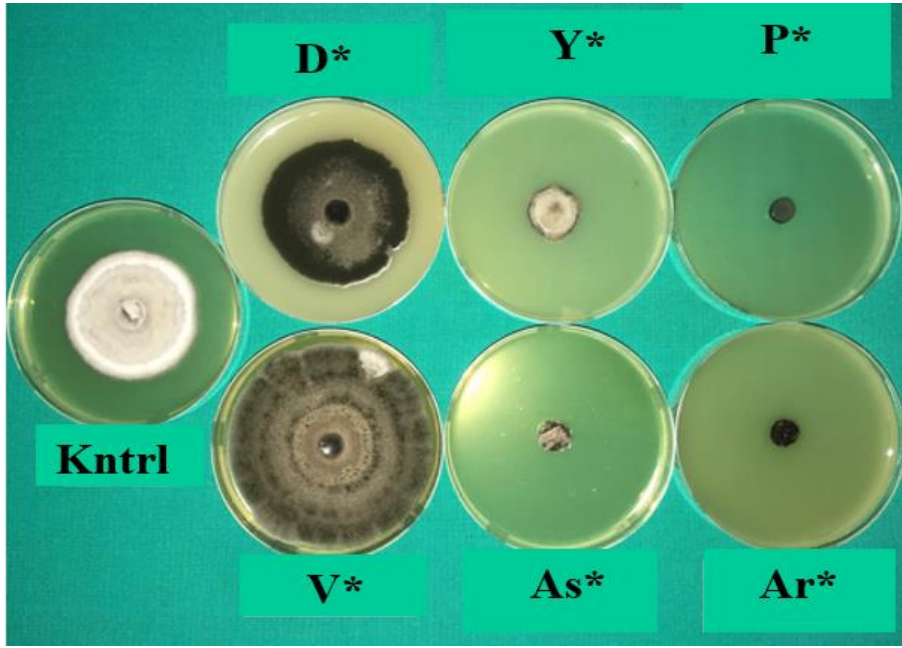
A: Kontrolde Miselyal Gelişim

B: Uygulamada Miselyal Gelişim

Çalışma sonunda, en iyi etki gösteren P* (150 g/L Pyraclostrobin + 75 g/L Fluaxapyroxad) ve bir diğer etkili bulunan Ar* 200 g/L Azoxystrobin + 80 g/L Cyproconazole fungusitlerinin karışımı tekrar test edilmiştir. Daha önceki aşamada olduğu gibi miselyal diskler (6 mm çap) fungusit solusyonlarına daha kısa bir sürede (10 saniye) batırılarak inkubasyona (25°C ve karanlıkta) bırakılmıştır. Kontrol grubu için miselyal diskler steril su ile muamele edilmiş ve PDA ortamında inkubasyona bırakılmıştır. Bu iki fungusitin ve karışım halinin etki değerleri hesaplanmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

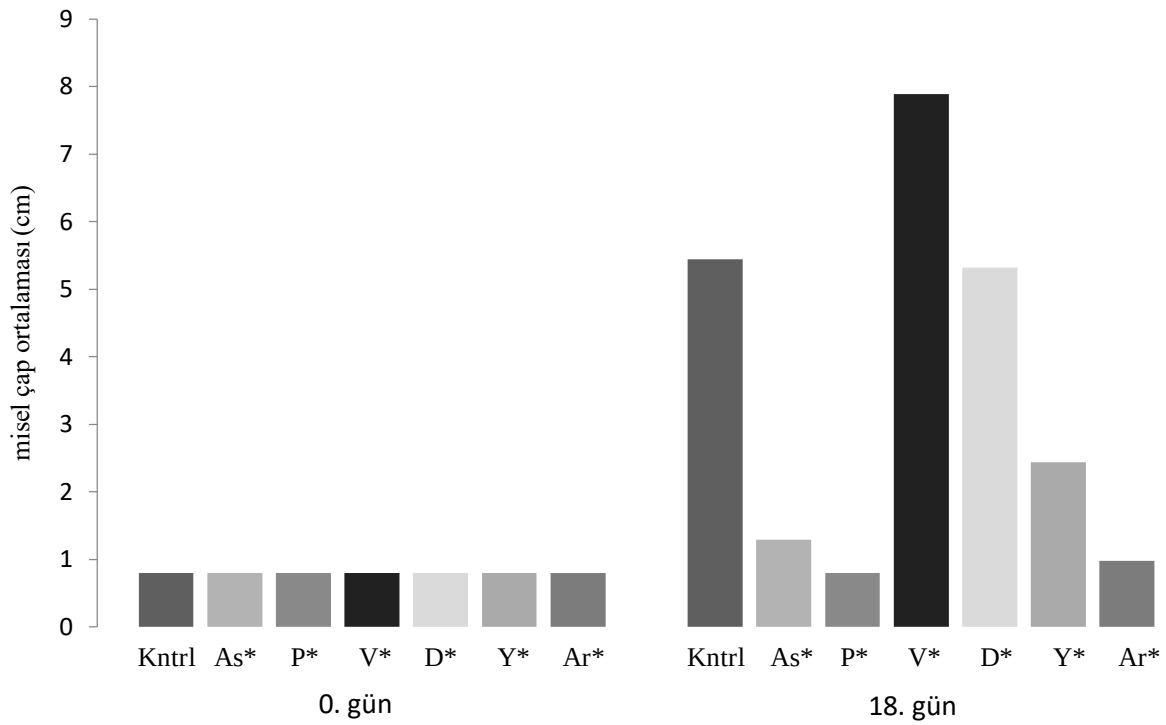
Çalışma, kontrol grubuna ait misellerin Petri kaplarını tamamen kaplaması ile sonlandırılmıştır (Şekil 1). Miselyal disklerin fungusit solusyonuna batırılması ve Petri kaplarına yerleştirilmesi ile çalışmanın başlatıldığı gün 0. gün olarak kabul edilmiş, çalışmanın bittiği günün (18. gün) ölçümleri esas alınarak hesaplamalar yapılmıştır.



Şekil 1. *Alternaria alternata* etmenine karşı yapılan fungisit çalışması sonucu Petri görüntüleri
Figure 1. Petri images as a result of the fungicide study against *Alternaria alternata* agent

Her uygulamanın misel çap uzunlukları Petri kaplarının iki farklı tarafından ölçülmüş, ortalamaları alınmış ve her uygulamanın ortalaması belirlendikten sonra sonuçlar Şekil 2’de ifade edilmiştir. Buna göre, % engelleme veya % etki değeri açısından %7 oran ile V* (metrafenone) ve %37.41 ile D* (Fosforoz asit) aktif maddeleri en az etkili bulunan fungisitler olurken, %90.59 etki gösteren P* (Pyraclostrobin + Fluaxapyroxad), %88.47 ile Ar* (Azoxystrobin + Cyproconazole), %84.82 ile As* (Azoxystrobin+Propiconazole) ve

%71.79 ile Y* (Thiophanate-methyl + Tetraconazole) aktif maddeye sahip fungisitler oldukça etkili bulunmuşlardır. Kaliforniya’da *Pistacia vera*’da *A. alternata*’ya karşı uygulanan fungisitlerden pyraclostrobin etken maddesi hastalık etmenine karşı oldukça yüksek oranda direnç göstermiştir (Avenot, ve ark., 2015). Bu çalışmada ise pyraclostrobin etken maddesi içeren fungisit *Alternaria*’ya karşı etkili bulunmuştur.

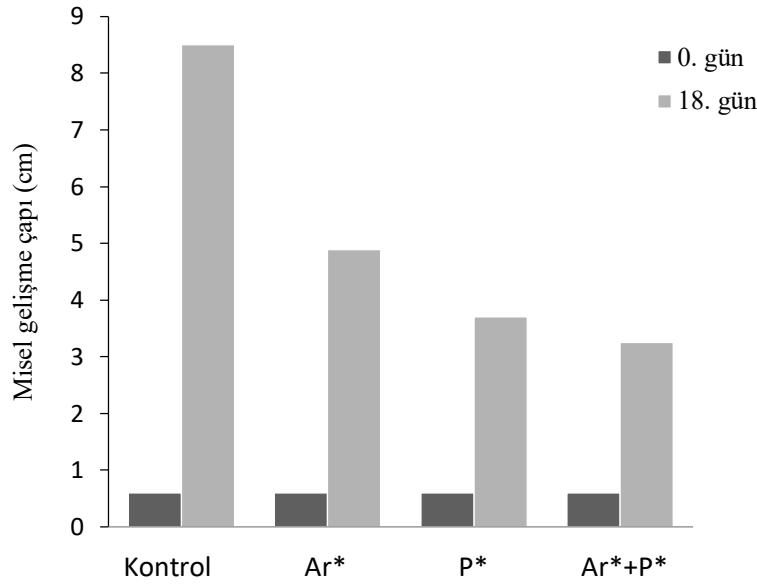


Şekil 2. Farklı fungusit koşullarında *Alternaria alternata*'nın gelişme durumları

Figure 2. Growth status of *Alternaria alternata* under different fungicide conditions

Bu çalışmada kullanılan etkili maddeye sahip fungusitlerin ülkemizde henüz direnç oluşturamayacak kadar yaygın olarak kullanılmadığı ve sık uygulama yapılmadığı için hedef funguslar üzerinde etkili olduğu tahmin edilmektedir. Hastalığı etkili bir şekilde kontrol altına almak için büyüme mevsimi boyunca çoklu fungusit uygulamaları gerektiğinden (Rosenzweig ve ark., 2008, Horsfield ve ark., 2010), bu tip çoklu fungusit uygulamalarının ülkemizde de fungusit direnci kazandıracağı endişesi ile, bu çalışmada etkili bulunan fungusitlerin etken maddelerinin farklı ticari isimler altında pazarlanması farklı fungusitler kullanıldığı düşüncesi ile yine bir etken

maddenin çoklu uygulaması anlamına geleceği göz ardı edilmemelidir. Bu çalışmada etkili bulunan iki fungusidin (P* ve Ar*) karışımları test edilerek etkinliği araştırılmış, çoklu fungusit uygulamasının azaltılması hedeflenmiştir. Böylece, karışımı yapılan etkili fungusitlerin doz azaltılması veya daha az sıklıkla uygulanmasının mümkün olup olmayacağı değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, etkili bulunan fungusitler arasından (P*) Pyraclastrobin + Fluxapyroxad etken maddeli ve (Ar*) Azoxystrobin + Cyproconazole etken maddeli fungusitler karıştırılıp, bu fungusitlerin etkinlikleri Şekil 3'te verilmiştir.

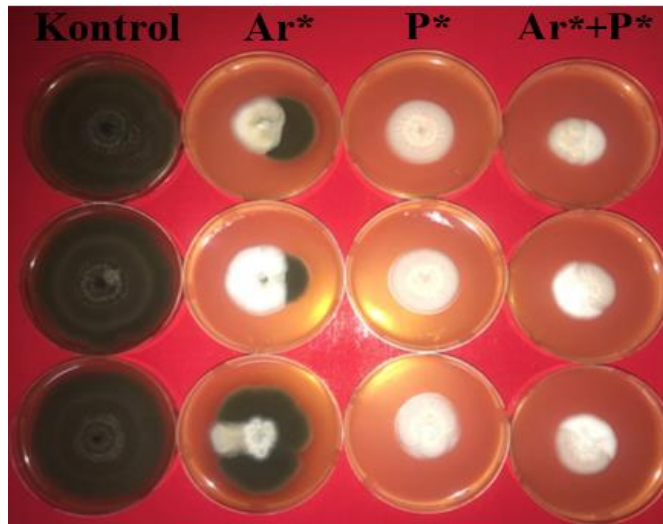


Şekil 3. *Alternaria* etmenine karşı etkili bulunan iki fungisit kombinasyonu sonucu misel gelişme çapları grafiği

Figure 3. Graph of mycelial growth diameters as a result of combining two fungicides found to be effective against *Alternaria*.

Alternaria için uygulanan bu çalışma kontrol grubu misellerinin Petri kaplarını tamamen kaplaması sonucu (8.5 cm) 18 günde bitirilmiştir. Azoxystrobin + Ciproconazole (Ar*) uygulaması 4.88 cm çapında gelişme gösterirken Pyraclostrobin + Fluxapyroxad (P*) uygulama

grubu ise 3.7 cm'lik bir gelişme göstermiştir. Azoxystrobin + Ciproconazole ve Pyraclostrobin + Fluxapyroxad aktif maddelerin kombine uygulama grubu (Ar*+P*), 3.25 cm'lik çap ortalaması Ar* ve P* fungisitlerinin uygulama gruplarına kıyasla daha etkili bulunmuştur (Şekil 4).



Şekil 4. En etkili bulunan iki fungisit kombine uygulanması sonucu Petri kaplarındaki misel görünümü

Figure 4. Mycelial appearance in Petri dishes as a result of the combined application of the two most effective fungicides

Uygulanan fungisitler *Alternaria* etmeninin melanin pigmenti salgılamasını engelleyerek beyaz kolonizasyona yol açmıştır. Bu durumda hastalık

etmeninin melanin pigmenti yokluğunda enfeksiyon şiddetini kaybettiği söylenebilir. Fakat Azoxystrobin + Ciproconazole (Ar*) aktif maddeli

fungisit belirli bir süre sonra tesirini kaybetmeye başladığında miseller pigment oluşturmaya başlamış ve koloni kenarından başlayarak koyu yeşil rengine bürünmüştür. Melanin ile patojen virülensliği arasındaki ilişki *Pyrenophora teres* fungusunda rapor edilmiş, fungal etmenin melanin içeriğinin patolojik enzimler ile ilişkisi ortaya konmuştur (Dikilitas ve ark., 2018).

Benzimidazollerin kullanıma girmesinden bu yana, seçici fungisitlerin çoğunun değişen düzeylerde direnç riski taşıdığı bilinmektedir (Thind, 2021). Yapılan bir çalışmada bazı mutasyonların *Botrytis cinerea*, *A. alternata*, *A. solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı Boscalid içerikli fungisitlere karşı laboratuvar koşullarında direnç kazandığı tespit edilmiştir (Lendschood ve ark., 2017; Fernondez - Ortuno ve ark., 2017). Diğer bir çalışmada izole edilmiş birçok patojen fungus Boscalid dahil olmak üzere farklı fungisit aktivitelerini etkisiz hale getirerek farklı direnç mekanizmaları geliştirmiştir (Cherred ve ark., 2018). İki pestisit tek başına değil de ikili kombinasyonlar halinde uygulanmasının direnç gelişimini engellediği vurgulanmıştır (Schwarz ve ark., 2022). Mancozeb ve Klorothalonil fungisitlerinin kombinasyon halinde kullanılması patojen baskılamasına karşı iyi koruma sağlamıştır (Adams ve ark., 2015). Cyprodinile ve Fludioxonile kombinasyonları uzun yıllar kullanılması sonucu direnç oluşturduğu ve *B. cinerea*'ya karşı Fluopyram+Boscalid kombinasyonu düşük direnç gösterdiği bildirilmiştir (Weber ve ark., 2015). Yapılan başka bir çalışmada Phosphite ve Azoxystrobin+Siprokonazole karışımı mısırdaki *Bipolaris* etmenine etki etmediği fakat *Curvularia* etmenine etki ettiği tespit edilmiştir. Yine bir çalışmada *Phytophthora infestans*'a karşı uygulanan Azoxystrobin'e karşı etmenin direnç geliştirdiği Yang ve ark. (2021) tarafından bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise Azoxystrobin aktif maddesi içeren fungisit A. *alternata* etmenine karşı melanin engellemesini belirli bir süre sonra durdurmuş fakat başka bir aktif madde ile kombinasyon halinde uygulanması sonucu misel kolonisi ve melanin pigmenti oluşumunu başarılı bir şekilde engellemiştir.

Fungisitlerde etken madde sayısının az olması direnç sorunlarına yol açmaktadır. Bundan dolayı kalıntı riski olan ve ruhsatlı olmayan ürünlere yönelim artmaktadır. Kombine uygulanan fungisitlerin direnç gelişimini geciktirdiği veya engellediği görülmüştür. Sık sık uygulanan pestisitler ve uygun olmayan dozlarda fungisit kullanımı direnç mekanizmasını geliştirmektedir. Bundan dolayı birçok dirençli fungus türlerinin tarımda önemli verim/kalite ve ekonomik kayıplara yol açacağı öngörülmektedir.

Sonuçlar ve Öneriler

Alternaria alternata etmeni ile mücadele olanakları araştırılmış pas ve külleme hastalıklarına karşı ruhsatlı olan fakat daha önce *Alternaria*'ya karşı ruhsatlı olmayan etken maddeler ilk kez bu çalışmada kullanılmıştır. Fungisit çalışması sonucunda elde edilen verilere göre 6 fungisitten 4 tanesi etkili bulunmuştur. Misel kolonizasyonunun %50'sinden fazlasını engellemesi açısından etkili bulunan 4 fungisit, pyraclostrobin + fluaxapyroxad (P*), propiconazole + azoxystrobin (As), Azoxystrobin + Cyproconazole (Ar*) ve thiophanate-methyl + tetraconazole (Y*) aktif maddeli fungisitler olmuştur. Metrafenone (V*) ve Fosforoz Asit (D*) aktif maddeli fungisitler önemli bir misel engelleme etkisi oluşturamamıştır. Hastalığı etkili bir şekilde kontrol altına almak için çoklu fungisit uygulaması yapılmıştır. Bunun için, Ar* ve P* fungisitlerinin etken maddeleri karıştırılıp (Ar*+P*) kontrole ve bu fungisit gruplarına oranla etkili olduğu görülmüştür. Bu çalışma çoklu fungisitlerin daha etkili olabileceğinin yanı sıra fungisit direncine karşı etkili olabileceği öngörülmüştür. Bölgemizde çeşitli orman ve meyve ağaçlarında enfeksiyon yapabilme kapasitesine sahip A. *alternata*'nın yaygınlığına karşı etmen ciddi boyutlara ulaşmadan önlem alınması gerekmektedir. Bu çalışma ile yeni fungisit grupları ve etkili bulunan fungisitlerin karışımları ile sık fungisit uygulamasının önüne geçilebileceği değerlendirilmiştir. İki ayrı etken maddeye sahip etkili bulunan fungisitlerin, A. *alternata*'da nasıl direnci azalttığı ve melanin sentezini düşürdüğü

ayrıca değerlendirilecektir.

Yazarların Katkısı

Bu çalışma, Mehmet Ertuğrul GÜLDÜR ve Murat DİKİLİTAŞ tarafından tasarlanmış ve Berfin KILINÇ ile M. Ertuğrul GÜLDÜR tarafından yürütülmüştür. Berfin KILINÇ makaleyi yazmış Murat DİKİLİTAŞ makaleyi okuyup gerekli düzeltmelerde bulunmuştur. Tüm yazarlar eşit şekilde makaleye katkı sağlamıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı

Yazarlar aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir.

Kaynakçalar

- Adams, M. L., Parada, C. H. and Quesada-Ocampo, L. M. (2015). Evaluation of fungicides for control of downy mildew in cucumber, Kinston 2014 *Plant Dis. Management*, 9, p. V081,10.1094/PDMR1009.
- Avenot, H. F., Michailides, T. J., (2007). Resistance to boscalid fungicide in *Alternaria alternata* isolates from pistachio in California. *Plant Dis.* 91, 1345e1350.
- Avenot, H. F., and Michailides, T. J. (2015). Detection of isolates of *Alternaria alternata* with multiple-resistance to fludioxonil, cyprodinil, boscalid and pyraclostrobin in California pistachio orchards. *Crop Protection*, 78, 214-221.
- Barac, A., Ong, D. S. Y., Jovancevic, L., Peric, A., Surda, P., Tomic Spiric, V. and Rubino, S. (2018). Fungi-Induced Upper and Lower Respiratory Tract Allergic Diseases: One Entity. *Front. Microbiol.* 2018, 9, 583, doi:10.3389/fmicb.00583
- Barkat, E.H., Hardy, G.E.S.J., Ren, Y., Calver, M. and Bayliss, K.L. (2016). Fungal contaminants of stored wheat vary between Australian states. *Australasian Plant Pathol.* 45, 621–628, doi:10.1007/s13313-016-0449-9
- Brambilla, A., and Sangiorgio, A. (2020). Mould growth in energy efficient buildings: Causes, health implications and strategies to mitigate the risk. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 132, 110093.
- Chagas, J. F. R., da Costa, R. V., dos Santos, G. R., Ventura, M. V. A., and Costa, E. M. (2020). Foliar fungal diseases control and productivity depending on the phosphite and fungicide application in two corn hybrids. *Biotechnologia Vegetal*, 20(1), 33-41.
- Colovic, R. Puvaca, N., Cheli, F., Avantaggiato, G., Greco, D., Duragic, O. Kos, J. and Pinotti, L. (2019). D. econtamination of Mycotoxin-Contaminated

Feedstuffs and Compound Feed. *Toxins*, 11, 617, doi:10.3390/toxins11110617

- da Cruz Cabral, L., Rodríguez, A., Delgado, J., and Patriarca, A. (2019). Understanding the effect of postharvest tomato temperatures on two toxigenic *Alternaria* spp. strains: growth, mycotoxins and cell-wall integrity-related gene expression. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99 (15), 6689-6695.
- Delen, N., Özbek, T., ve Yıldız, M. (1991). Iprodione'a Duyarlılığı Azalmış *Alternaria solani* İzolatları Üzerinde Araştırmalar. VI. Türkiye Fitopatoloji Kongresi, 7-11 Ekim, İzmir, 269-274.
- Deshields, Joseph B. and KC, Achala N. (2021). Morphological and Molecular Characterization of *Alternaria* spp. Isolated from European Pears. *Plant Disease*, 105.9: 2531-2540.
- Dikilitas, M. (2003). Effect of salinity and its interactions with *Verticillium albo-atrum* on the disease development in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) and lucerne (*Medicago sativa* L and *M. media*) plants. Swansea University (United Kingdom).
- Dikilitaş, M., Çelik Oğuz, A. R. Z. U., and Karakaya, A. (2018). Extracellular protease activity and glucose production in isolates of net blotch pathogens differing in virulence. *Zemdirbyste-Agriculture*, 105(1).
- Escriva, L., Oueslati, S., Font, G. and Manyes, L. (2017). *Alternaria* mycotoxins in food and feed: an overview. *Journal of Food Quality*, 1569748.
- Fernandez-Ortuno, D., Perez-Garcia, A., Chamorro, M., de la Pena, E., de Vicente, A., and Tores, J. A. (2017). Resistance to the SDHI fungicides boscalid, fluopyram, fluxapyroxad, and penthiopyrad in *Botrytis cinerea* from commercial strawberry fields in Spain. *Plant disease*, 101(7), 1306-1313.
- Gudmestad, N. C., Arabiat, S., Miller, J.S. and Pasche, J.S., (2013). Prevalence and impact of SDHI fungicide resistance in *Alternaria solani*. *Plant Dis.* 97, 952e960.
- Horsfield, A., Wicks, T., Davies, K., Wilson, D. and Paton, S., (2010). Effect of fungicide use strategies on the control of early blight (*Alternaria solani*) and potato yield. *Australas. Plant Pathol.* 39, 368e375.
- Kasap, İ., ve Akyüz, G. (2017). Elma Yetiştiriciliğinde Kullanılan Bazı Pestisitlerin Kalıntı Etkileri. *ÇOMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*.
- Kaya, B., ve Zorba, N. N., (2021). *Alternaria* Genusu Üyelerinin Meyve ve Sebzeler Üzerine Etkileri. *Mantar Dergisi*, 12(2), 223-239.
- Kılınç, B. (2021). Şanlıurfa İlinde Antepfıstığı (*Pistacia Vera* L.) Ağaçlarında *Neoscytalidium Novaehollandiae*'nin Bulaşıklık Oranının Belirlenmesi, Morfolojik ve Moleküler Karakterizasyonu ve in vitro Fungusit Duyarlılığı (Yayımlanmış yüksek lisans tezi). Harran Üniversitesi Fenbilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Landschoot, S., Carrette, J., Vandecasteele, M., De Baets, B., Höfte, M., Audenaert, K., and Haesaert, G. (2017).

- Boscalid-resistance in *Alternaria alternata* and *Alternaria solani* populations: An emerging problem in Europe. *Crop Protection*, 92, 49-59.
- Leiminger, J.H., Adolf, B. and Hausladen, H., (2014). Occurrence of the F129L mutation in *Alternaria solani* populations in Germany in response to QoI application, and its effect on sensitivity. *Plant Pathol.* 63, 640-650.
- Mohan, V., Nivea, R. and Menon, S. (2015). Evaluation of ectomycorrhizal fungi as potential bio-control agents against selected plant pathogenic fungi. *JAIR*, 3, 408-412.
- Mujahid, C. Savoy, M.-C. Basle, Q., Woo, P. M., Ee, E. C. Y., Mottier, P. and Bessaire, T. (2020). Levels of *Alternaria* Toxins in Selected Food Commodities Including Green Coffee. *Toxins*, 12, 595, doi:10.3390/toxins12090595
- Pasche, J.S., Wharam, C.M. and Gudmestad, N.C., (2004). Shift in sensitivity of *Alternaria solani* in response to QoI fungicides. *Plant Dis.* 88, 181e187.
- Patriarca, A. (2016). *Alternaria* in food products. *Current Opinion in Food Science*, 11, 1-9.
- Puvaca, N., Ljubojevic, D., Zivkov Balos, M., Duragic, O., Bursic, V., Vukovic, G., Prodanovic, R. and Boskovic, J. (2018). Occurance of Mycotoxins and Mycotoxicosis in Poultry. *CDVS*, 2, 165-167, doi:10.32474/CDVS.2018.02.000130
- Rosenzweig, N., Atallah, Z. K., Olaya, G. and Stevenson, W.R., (2008). Evaluation of QoI fungicide application strategies for managing fungicide resistance and potato early blight epidemics in Wisconsin. *Plant Dis.* 92, 561e568.
- Sanchez-Garcia M, Ryberg M, Khan FK, Varga T, Nagy LG and. (2020). Fruiting body form, not nutritional mode, is the major driver of diversification in mushroom-forming fungi. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 117:32528-32534 [View Article] [Google Scholar].
- Schiro, G., Verch, G., Grimm, V. and Müller, M., (2018). *Alternaria* and *Fusarium* Fungi: Differences in Distribution and Spore Deposition in a Topographically Heterogeneous Wheat Field. *JoF*, 4, 63, doi:10.3390/jof4020063
- Schwarz, J. M., Knauer, A. C., Allan, M. J., Dean, R. R., Ghazoul, J., Tamburini, G., and Albrecht, M. (2022). No evidence for impaired solitary bee fitness following pre-flowering sulfoxaflor application alone or in combination with a common fungicide in a semi-field experiment. *Environment International*, 164, 107252.
- Townsend, G. R., (1943). Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Disease Reporter*, 27, 340-343.
- Tralamazza, S. M., Piacentini, K. C., Iwase, C. H. T., and de Oliveira Rocha, L., (2018). Toxigenic *Alternaria* species: impact in cereals worldwide. *Current opinion in food science*, 23, 57-63.
- Weber, R. W. S., Entrop, A-P., Goertz, A., and Mehl, A. (2015). Status of sensitivity of northern German *Botrytis* populations to the new SDHI fungicide fluopyram prior to its release as a commercial fungicide. *J Plant Dis Protect* 122:81-90.
- Wharton, P., Fairchild, K., Belcher, A. and Wood, E., (2012). First report of *in vitro* boscalid resistant isolates of *Alternaria solani* causing early blight of potato in Idaho. *Plant Dis.* 96, 454.
- Yang, L. N., Nkurikiyimfura, O., and Pan, Z. C. (2021) Plant diversity ameliorates the evolutionary development of fungicide resistance in an agricultural ecosystem. *J Appl Ecol* 58:2566-2578.
- Yüksel, F., ve Erkiş, A. (2014). Turunçgillerde kahverengi yaprak lekke hastalığı etmeni *Alternaria alternata* f. sp. *citri* izolatlarına karşı bazı fungusitlerin etkinliğinin ve direnç oluşumunun belirlenmesi. *Ç. Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. Cilt: 31-2.



***Amaranthus* (Amaranthaceae) türleri için iki potansiyel biyolojik kontrol ajanı: *Hypolixus pica* ve *Lixus subtilis* (Coleoptera: Curculionidae)**

Two potential biological control agents for *Amaranthus* (Amaranthaceae) species: *Hypolixus pica* and *Lixus subtilis* (Coleoptera: Curculionidae)

Mesut SIRRI^{1*} 

¹Siirt Üniversitesi, Kurtalan Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Siirt, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-9793-9599>

To cite this article:

Sirri, M. (2024). *Amaranthus* (Amaranthaceae) türleri için iki potansiyel biyolojik kontrol ajanı: *hypolixus pica* ve *lixus subtilis* (coleoptera: curculionidae). Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 70-81
DOI: 10.29050/harranziraat.1394119

***Address for Correspondence:**

Mesut SIRRI
e-mail:
m.sirri@siirt.edu.tr

Received Date:

21.12.2023

Accepted Date:

21.02.2024

Öz

Amaranthus türleri farklı habitatlara uyum ve rekabet yetenekleri nedeniyle dünya genelinde pek çok tarımsal ürünün verimini etkileyen en önemli yabancı otlar arasında yer almaktadır. Güçlü rekabet yeteneklerinin yanında herbisitlere dayanıklı biyotiplerinin varlığı da dikkate alındığında: *Amaranthus* türleri için alternatif yabancı ot kontrol stratejilerinin belirlenmesi önemlidir. Bu çerçevede ele alınan bu çalışma ile *Amaranthus* türlerinin biyolojik mücadelesinde kullanılabilecek veriler elde etmek, yabancı otlara yönelik alternatif mücadele çalışmalarını desteklemek ve biyolojik mücadele çalışmalarına bir kaynak sağlamak amaçlanmıştır.

Bu amaçlar için Türkiye'nin Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yer alan dört il genelinde 119 lokasyonda bir survey çalışmasıyla *Amaranthus* türleri ile beslenen böcek türleri tespit edilmiş ve bu türlerin ilgili bitkilerin mücadelesinde biyolojik mücadele ajanı olarak kullanım olanakları saha ve ön laboratuvar çalışmalarıyla araştırılmıştır. Örneklem alanlarında (20m × 20m = 400 m²) karşılaşılan her bir *Amaranthus* türünde en az 10 adet bitkinin tüm bitki aksamaları (kök, gövde, yaprak, çiçek, tohum) incelenmiştir. İncelemeler sırasında örneklenen bitkilerin zarar durumları ve böcek türlerinin biyolojik dönemlerine (ergin, larva ve pupa) ait veriler toplanmıştır. Bu bağlamda *Amaranthus* türleri üzerinde tespit edilen böceklerle ait larva ve pupalar ile bu böcek türlerinin beslenme belirtilerinin olduğu genç bitkiler laboratuvar ortamında takip edilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde; çalışma alanında *Amaranthus retroflexus* L., *A. palmeri* S. Watson ve *A. albus* L. olmak üzere üç farklı *Amaranthus* türü belirlenmiştir. Ayrıca, *A. retroflexus* ile *A. palmeri* türleri ile beslenen ve biyolojik dönemlerini bu bitkiler üzerinde geçiren iki Coleoptera: Curculionidae türü; *Hypolixus pica* (F.) ve *Lixus subtilis* Boheman, 1835 tanımlanmıştır. Laboratuvar koşullarında yapılan ön etkinlik çalışmaları sonucunda ise her iki böcek türünün de *A. retroflexus* ile *A. palmeri* türlerini baskı altına alabildiği belirlenmiştir. Ancak, ilgili böcek türlerinin etkinlik düzeyi biyolojik kontrol ajanlarının popülasyon yoğunluğuyla doğru orantılı olduğu için daha ayrıntılı bilgiler için detaylı saha ve laboratuvar çalışmalarının yapılması önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Amaranthus* spp., horozibiği türleri, biyolojik mücadele, *Hypolixus pica* (F.), *Lixus subtilis* Boheman, 1835, Türkiye

ABSTRACT

Amaranthus species are among the most important weeds affecting the yields of many agricultural crops worldwide due to their adaptability and competitiveness in different habitats. Considering their strong competitive ability and the presence of herbicide resistant biotypes: It is important to determine alternative weed control strategies for



Amaranthus species. The aim of this study was to obtain data that can be used in the biological control of *Amaranthus* species, to support alternative control efforts for weeds and to provide a resource for biological control efforts. For these purposes, insect species feeding on *Amaranthus* species were identified in 119 locations in four provinces in the Southeastern Anatolia Region of Turkey and the possibilities of using these species as biological control agents in the control of related plants were investigated by field and preliminary laboratory studies. All plant parts (root, stem, leaf, flower, seed) of at least 10 plants of each *Amaranthus* species encountered in sampling areas (20 m × 20 m = 400 m²) were examined. During the surveys, data were collected on the damage status of the sampled plants and the biological stages (adults, larvae and pupae) of the insect species. In this context, larvae and pupae of insects detected on *Amaranthus* species and young plants with feeding symptoms of insect species were monitored in the laboratory environment. When the data obtained were evaluated; three different *Amaranthus* species, namely *Amaranthus retroflexus* L., *A. palmeri* S. Watson and *A. albus* L. were identified in the study area. In addition, two Coleoptera Curculionidae species that feed on *A. retroflexus* and *A. palmeri* species and spend their biological periods on these plants: Curculionidae species; *Hypolixus pica* (F.) and *Lixus subtilis* Boheman, 1835 were identified. As a result of preliminary efficacy studies conducted under laboratory conditions, it was determined that both insect species were able to suppress *A. retroflexus* and *A. palmeri* species. However, since the effectiveness level of the relevant insect species is directly proportional to the population density of biological control agents, it is recommended to conduct detailed field and laboratory studies for more detailed information.

Key Words: *Amaranthus* spp., pigweed species, biological control, *Hypolixus pica* (F.), *Lixus subtilis* Boheman, 1835, Turkey

Giriş

Topografya, iklim ve toprak özellikleri bakımından yedi coğrafik ve üç biyocoğrafik (Akdeniz, Avrupa-Sibirya ve İran-Turan) bölgeye sahip olan Türkiye, biyolojik çeşitlilik açısından oldukça zengindir (Doğan ve ark., 2010; Önen, 2010a; Güner ve ark., 2012). Türkiye'deki bu çeşitlilik doğal olarak pek çok yabancı bitki için de uygun ekolojik koşullar oluşturmakta ve ayrıca tarımsal ekosistemlerde ciddi verim (%36-92) ve kalite kayıplarına neden olan yabancı otlar ve bunların içerisinde bir çok istilacı yabancı bitkiye de ev sahipliği yapmaktadır (Özer ve ark., 1999; Güner ve ark., 2012; Garvey ve ark., 2013; Önen, 2015; Uludağ ve ark., 2017). Bu durum küresel iklim değişikliğinden sonra biyolojik çeşitlilik kaybına neden olan en önemli etmenlerden biri olan istilacı türlere (IPBES, 2023) yönelik risklerin Türkiye'de artmasına neden olabilir. Bu bağlamda, dünya genelinde yüksek çevresel ve sosyo-ekonomik etkilere neden olan istilacı bitkilerin, Türkiye'de de ciddi etkilere neden olabildiği rapor edilmektedir (Farooq ve ark., 2015; Uludağ ve ark., 2017; Yazlık ve ark., 2018; Sırrı, 2022; Önen ve ark., 2023). Tüm bu durumlar dikkate alındığında; tarım ve tarım dışı alanlarda yüksek rekabet yeteneğinde olan yabancı menşeli bitki türlerinin yönetimine yönelik çalışmalar önem arz etmektedir.

Dünya genelinde neredeyse tüm tarımsal üretim alanlarında verim ve kalite kayıplarına

neden olan en önemli yabancı otlardan biri de *Amaranthus* türleridir (Mlakar ve ark., 2010; Lee, 2011; Huang ve ark., 2020). Genel olarak Amerika kıtası orijinli olan *Amaranthus* türleri (POWO, 2023) farklı coğrafyalarda ciddi bir tür dağılımına sahiptir. Örneğin; tropikal ve ılıman bölgelerde yayılım gösteren 74 *Amaranthus* (Amaranthaceae) türü tanımlanmıştır (Mosyakin ve Robertson, 2004). Türkiye florasında ise *Amaranthus* cinsine ait takson sayısının son kayıtlarla birlikte 18 olduğu bildirilmiştir (Uygur ve ark., 2021). Türkiye'de buğday, pamuk, mısır, mercimek, şeker pancarı, patates, anason, domates, hıyar, ayçiçeği, fasulye, yonca, nohut, bamya, soya, susam, yerfıstığı, ıspanak, soğan, turunçgiller, fındık, antepfıstığı, bağ, meyvelik, sebzelik, fidelik, fidanlık ve örtü altı sebzecilik alanlarının yanında su kanalları, yol ve tarla kenarları gibi çok farklı yaşam alanlarında (habitatlarda) yayılış gösteren *Amaranthus* türleri meydana getirdikleri çevresel ve sosyo-ekonomik etkiler nedeniyle önemli yabancı otlar arasında sayılmaktadır (Özer ve ark., 1999; Ergun ve ark., 2014; Tepe, 2014; Özcan ve ark., 2015; Güncan ve Karaca, 2018; Uludağ ve ark., 2017; Yazlık ve ark., 2018; Sırrı, 2022).

Örneğin; Avrupa ve Amerika kıtaları başta olmak üzere, *A. retroflexus* L. ve *A. palmeri* S. Watson türleri tarımsal ekosistemlerde neden oldukları ekonomik kayıplardan dolayı mücadele edilmesi gereken en önemli yabancı otlar arasında yer almaktadır (Mahoney ve ark., 2021; Sırrı,

2022). Nitekim *Amaranthus* türlerinin geniş adaptasyon kabiliyetleri (toprak tipi, pH, rakım gibi), yüksek üreme potansiyelleri, üstün rekabet yetenekleri ve sahip oldukları genetik çeşitlilik sebebiyle bulundukları bölgelerde popülasyon yoğunluklarını hızla arttırabilir, pek çok faktörün (su, alet-ekipman, tohumluk, hayvan gübresi gibi) etkisiyle kolayca yayılabilir ve sahip oldukları morfolojik özellikleriyle (yüksek habitus, kazık kök gibi) bir alanda kontrol altına alınmaları oldukça güç olabilir (Ward ve ark., 2013; Özcan ve ark., 2015). *Amaranthus* türlerinin kontrolünde herbisitler başta olmak üzere farklı kontrol yöntemlerinden faydalanılsa da her zaman istenilen sonuçlar alınmayabilmektedir (Norsworthy ve ark., 2008). Ayrıca, ilgili türler son yıllarda çeşitli herbisitlere karşı dayanıklı biyotipler geliştirmiştir. Örneğin; *A. retroflexus* ve *A. palmeri* türlerinin farklı herbisitlere karşı dirençli varyasyonlar geliştirdikleri ve herbisit uygulamalarına rağmen tarımsal ekosistemde ciddi verim kayıplarına neden oldukları saptanmıştır (Li ve ark., 2022; Carvalho-Moore ve ark., 2022). Bu durum *Amaranthus* türlerinin kontrolünde alternatif yaklaşımlara gerek duyulduğunu ortaya koymaktadır. Diğer taraftan, genel olarak yabancı otların özelde ise *Amaranthus* türlerinin kontrolünde herbisit kullanımı ile başarı sağlansa dahi, insan ve çevre sağlığı açısından muhtemel riskler nedeniyle diğer pestisitler yanında herbisitlere karşı da son yıllarda olumsuz bir algı oluşmuştur (Aytaç ve ark., 2017; Caiati ve ark., 2020; Van Bruggen ve ark., 2021). Oluşan bu kamuoyu baskısı da tarımsal üretimde alternatif yaklaşımları zorunlu kılmaktadır (Önen, 2010).

Bu kapsamda klasik biyolojik mücadele yöntemleri tarımsal üretimde sürdürülebilirlik için en önemli stratejilerden biri olarak ortaya çıkmaktadır (Atay ve ark., 2015; Özasan ve ark., 2016). Nitekim biyolojik mücadele kısa vadede yoğun araştırma ve yatırım gerektirse de uzun vadede başarı için uygulanması en kolay, en ucuz ve sürdürülebilir bir yöntemdir (Uygur ve Uygur, 2010). Bu nedenle de yabancı otların kontrolünde biyolojik ajanların kullanılması son yıllarda giderek yaygınlaşmaktadır (Sırrı ve ark., 2022).

Teknolojinin tarıma entegrasyonu, özellikle yabancı ot mücadelesi ve biyolojik mücadele çalışmaları açısından önemli gelişmelere yol açmıştır. Bu gelişmeler, hassas tarım uygulamaları mümkün hale gelmiştir. Örneğin, hassas tarım ekipmanları ve otomatik kontrol sistemleri, yabancı ot ilaçlarının doğru ve etkili bir şekilde uygulanmasına olanak sağlamıştır. Biyolojik mücadele çalışmalarında ise, teknolojinin katkıları daha da belirgin hale gelmektedir. Özellikle biyolojik mücadelede kullanılan doğal düşmanların üretimi ve salınımı süreçlerinde teknolojinin kullanılması, bu yöntemin daha etkili ve verimli bir şekilde uygulanmasını sağlamaktadır. Ayrıca, akıllı tarım uygulamaları sayesinde, doğal düşmanların etkinliği ve yayılma alanları daha iyi izlenebildiğinden, mücadele stratejileri daha etkili bir şekilde planlanabilmektedir. Bu çerçevede, son yüz yıl içerisinde 500'den fazla biyolojik kontrol ajanının aktif olarak kullanılması ile 200 kadar yabancı ot türünün idaresinin yapıldığı rapor edilmiştir (Day ve Witt, 2019).

Tarım alanlarında görülen yabancı otların biyolojik kontrolünde çok farklı etmenlerden (böcekler ve/veya patojenler) faydalanılabilmektedir (Uygur ve Uygur, 2010). Örneğin, böcekler içerisinde Curculionidae (Coleoptera) türleri yabancı otların kontrolünde önemli bir potansiyele sahiptir (Tozlu ve ark., 2010; Gültekin ve Korotyaev, 2012; Day ve Witt, 2019; Winston ve ark., 2023). Bu bağlamda; Curculionidae (Coleoptera) türlerinin özellikle *Amaranthus* türlerinin biyolojik kontrolünde başarıyla yararlanılabildiği rapor edilmiştir (Napompeth, 1982; Kolaib ve ark., 1986; Tozlu ve ark., 2010; Gültekin ve Korotyaev, 2012). Örneğin; *Hypolixus truncatulus* (F.) (Coleoptera: Curculionidae) türünün Tayland'da *Amaranthus spinosus*'un kontrolünde herbisit kullanımına alternatif olabileceği vurgulanmıştır (Napompeth, 1982). Ayrıca, aynı böcek türü Mısır'da ise *A. caudatus* L.'un kök ve gövdelerinde zararlı oluşturduğu ve zarar oranının yerel olarak %100'e ulaşabildiği bildirilmiştir (Kolaib ve ark., 1986). Türkiye'de yapılan bir çalışmada ise *A. spinosus*'un idaresinde *Cosmobaris discolor* (Boheman)

(Coleoptera: Curculionidae) ve *H. pica* türlerinin doğal biyolojik kontrol ajanları olarak yararlı olabileceği bildirilmiştir (Gültekin ve Korotyaev, 2012). Ancak, bitkilerin biyolojik mücadelesine yönelik yapılan çalışmalar tüm Dünya’da hala eksiktir. Bu durumlar dikkate alınarak; bu çalışma ile Türkiye’de tarım ve tarım dışı alanlarda ciddi sorunlar oluşturan yabancı otlardan biri olan *Amaranthus* türlerinin (Özer ve ark., 1999; Ergun ve ark., 2014; Tepe, 2014; Özcan ve ark., 2015; Güncan ve Karaca, 2018; Yazlık ve ark., 2018; Sırrı, 2022) biyolojik mücadelesine yönelik planlanmıştır. Bunun için Türkiye’de Güneydoğu Anadolu Bölgesinde yer alan Batman, Diyarbakır, Mardin ve Siirt illerinin tarım ve tarım dışı alanlarında *Amaranthus* türleri üzerinde beslenen böcek türlerinin tespiti, bu türlerin hedef bitkilerin mücadelesinde biyolojik mücadele ajanı olarak kullanım olanakları saha ve laboratuvar çalışmalarıyla araştırılmıştır. Dolayısıyla bu çalışmayla; *Amaranthus* türlerinin biyolojik mücadelesinde uygulamada kullanılabilecek veriler elde etmek, yabancı otlara yönelik alternatif mücadele çalışmalarını desteklemek ve biyolojik mücadele çalışmalarına kaynak sağlamak amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Bu çalışma Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde yer alan Batman, Diyarbakır, Mardin ve Siirt il sınırlarında 2019-2021 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Bunun için öncelikle çalışma alanlarında bulunan *Amaranthus* türlerinden ve ilgili türler ile beslenen böcek türlerinden örnekler alınmıştır. Alınan tüm bitki örnekleri laboratuvara getirilerek herbaryum yapılmış, teşhis edilmiş (Davis, 1965-1970; Özer ve ark., 1999) ve etiketlenmiştir. Örneklerin teşhisleri Siirt Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botan Herbaryumunda öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet FİDAN tarafından onaylanmıştır. Çalışmada tespit edilen böceklerin teşhisleri (Sert,

1995; Colonnelli, 2004) ise Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Osman SERT ve Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Dr. Öğretim Üyesi Neslihan BAL tarafından gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, Batman, Diyarbakır, Mardin ve Siirt illerinde ana ve ara yollar dikkate alınarak ve ilgili illeri temsil edecek şekilde rastgele seçilen 119 noktada gözlem ve detaylı incelemeler yapılmıştır. Süreyleyler esnasında her bir örnekleme noktasında tarım (buğday, mısır, pamuk, sebzeli, meyvelik, vb.) ve tarım dışı alanlardaki (tarla ve yol kenarları gibi) *Amaranthus* tür veya türleri ile beslenen böcek türleri genel olarak gözden geçirilmiş ve 20 m x 20 m = 400 m²’lik bir alan içerisinde en az 10’ar adet *Amaranthus* türüne ait bitkiler ile beslenen böceklerin olup olmadığı dikkatle incelenmiştir. Çalışma alanında bulunan *Amaranthus* album türü ile beslenen herhangi bir böcek türüne rastlanmadığından, çalışma boyunca tüm incelemeler *A. palmeri* ve *A. retroflexus* türleri ile yürütülmüştür. *A. palmeri* ve *A. retroflexus* türleri ile beslenen böceklerden kaynaklı zarar durumlarını belirlemek için öncelikle ilgili bitkilerin morfolojik görünümündeki (çiçek, yaprak, gövde, kök) değişimler ve tohumlarındaki zarar durumlarına yönelik veriler toplanmış ve ilgili zarar durumlarını gösteren fotoğraflar çekilmiştir (Şekil 1 ve Şekil 2). Bu aşamada rastlanılan her bir ergin böcek türünden de örnekler alınmıştır. Ayrıca böceklerin biyolojik dönemlerine ait veriler elde edebilmek amacıyla da *Amaranthus* türlerinin gövdelerinden enine kesitler alınarak bitki üzerine bırakılan böcek yumurta ve larvalardan da örnekler alınmıştır (Şekil 1 ve Şekil 2). Aynı zamanda çalışma alanında dağılım gösteren *A. albus*, *A. palmeri* ve *A. retroflexus* türlerinin rastlanma sıklığını belirlemek için Güncan (2014) tarafından oluşturulan aşağıdaki formülden yararlanılarak hesaplanmıştır (Şekil 4).

$$RS = n/m \times 100$$

(RS: rastlanma sıklığı (%), n: türün bulunduğu tarla sayısı, m: örnekleme yapılan toplam tarla sayısı)



Şekil 1. *Amaranthus palmeri* üzerinde *Hypolixus pica* ergin ve larva dönemleri
Figure 1. The adult and larval stages of *Hypolixus pica* on *Amaranthus palmeri*



Şekil 2. *Amaranthus retroflexus* üzerinde *Lixus subtilis* larva dönemi ve beslemesi
Figure 2. The larval stage and feeding on *Amaranthus retroflexus* by *Lixus subtilis*

Yumurta veya larva evrelerindeki böcekleri içeren bitki örnekleri erginler elde edilene kadar laboratuvar ortamında $25 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta, $60 \pm 10\%$ bağıl nemde ve 12L:12D ışık (L: aydınlık; D: karanlık) koşullarında tutulmuştur. Ayrıca, çalışma alanlarından toplanan *Amaranthus* türlerine ait tohumlar ve ergin böcekler kullanılarak laboratuvar koşullarında bir saksı denemesi kurulmuştur. Bitkilere ait tohumlar viyolada ekilmiş ve çimlenerek ortalama 5 cm boyuna gelen

fideler, ağız çapı (12 cm) ve derinliği (10.5 cm) olan saksılara aktarılmıştır. Saksıda yetiştirilen *A. retroflexus* ve *A. palmeri* bitkileri 4-6 yapraklı döneme ulaştıklarında kontrol ve 1 ile 5 arasında ergin böcek salımı yapılmıştır. Konukçu bitkiler ve üzerindeki ergin böceklerin gelişimi 2 gün arayla takip edilmiştir (Şekil 3). Kurulan saksı denemesinde doğal ajanla bitki arasındaki ilişki ve zarar seviyesi, kontrol ile kıyaslanması göz muayene ile yapılarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. A: Laboratuvarda *Amaranthus* türlerinin yetiştirildiği alan, b: *Amaranthus retroflexus* üzerinde *Lixus subtilis* erginin yaprakta beslenmesi c: *L. subtilis* erginin yaprakta beslenmesi d: *L. subtilis* larva zararı
Figure 3. A: *Amaranthus* species cultivation area in the laboratory, b: Leaf feeding of *Lixus subtilis* adult on *Amaranthus retroflexus* c: *L. subtilis* adult feeding on leaves d: *L. subtilis* larval damage



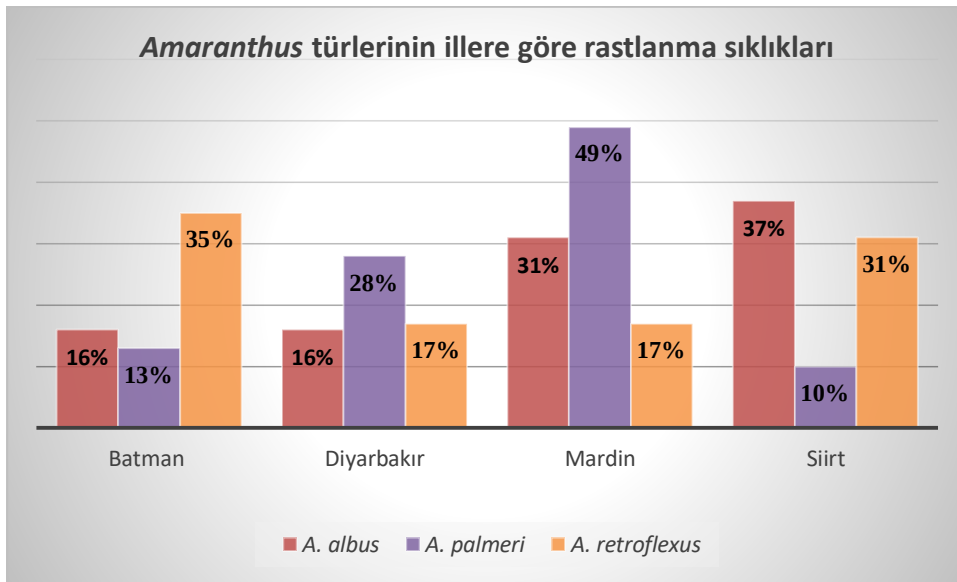
Şekil 4. *Amaranthus palmeri* üzerinde *Hypolixus pica* ergin yaprakta beslenmesi
Figure 4. Adult leaf feeding of *Hypolixus pica* on *Amaranthus palmeri*

Bulgular ve Tartışma

Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde; Batman, Diyarbakır Mardin ve Siirt illerinde yapılan survey sonucunda üç *Amaranthus* (*A. retroflexus*, *A. palmeri* ve *A. albus*) türüne rastlanılmıştır. Çalışma alanında en sık karşılaşılan *A. retroflexus* türüne yönelik gözlemi destekleyen veriler, daha önce yapılan çalışmalarda da bildirilmiştir (Demir ve Tepe, 2001; Pala ve Mennan, 2016). Örneğin, Özaslan ve Kendal (2014) Diyarbakır ve Mardin illerinde en fazla sorun oluşturan türlerden birinin *A. retroflexus* olduğunu vurgulamıştır. Bu tür Avrupa genelinde tarımsal üretim alanlarında en yüksek ekonomik kayba neden olan ilk 10 yabancı ot türünden biri olarak da görülmektedir (Schroeder ve ark., 1993). Benzer şekilde *A. albus*'un da Adıyaman, Batman, Diyarbakır, Gaziantep, Mardin, Siirt, Şanlıurfa ve Şırnak illerinde farklı kültür bitkilerinde (Örneğin; nohut,

pamuk) sorun oluşturduğu bildirilmiştir (Demir ve Tepe, 2001; Pala ve Mennan, 2016).

Güneydoğu Anadolu Bölgesinde çalışma alanlarında yapılan 3 yıllık gözlemlere dayanılarak, ilk kez 2017 yılında Mardin ilinde rapor edilen *A. palmeri*'nin (Özaslan ve ark., 2017) dağılım alanlarının giderek arttığı kanısına varılmıştır. Ayrıca *A. palmeri* Mardin ili başta olmak üzere yeni alanlarda popülasyon yoğunluğunu hızla yükseltmektedir. Benzer şekilde, Özaslan ve ark. (2017) ve Sırrı (2022) tarafından yapılan çalışmalarda da *A. palmeri*'nin Güneydoğu Anadolu bölgesinde hızla yayılma potansiyeli sergilediği ve tarımsal ekosistem için ciddi bir risk olduğu bildirilmektedir (Şekil 5). Güneydoğu Anadolu bölgesinde olduğu gibi dünya genelinde de *A. palmeri*'nin tarım alanlarına hızla yayıldığı farklı araştırmacılar tarafından da ortaya konulmuştur (Ward ve ark., 2013; Mahoney ve ark., 2021).

Şekil 5. *Amaranthus* türlerin il bazındaki rastlama sıklıklarıFigure 5. Incidence frequencies of *Amaranthus* species by province

Çalışma alanında rastlanan üç *Amaranthus* türünden ikisi (*A. retroflexus* ve *A. palmeri*) üzerinde Coleoptera: Curculionidae familyasına

ait bireylere rastlanmıştır. Yapılan teşhiste bu böceklerin *Hypolixus pica* (F.) ve *Lixus subtilis* Boheman 1835 türleri oldukları belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Çalışma alanında *Amaranthus* türleri üzerinde tespit edilen böcek türleri ve biyolojik dönemlerine ilişkin verilerTable 1. Insect species and biological periods detected on *Amaranthus* species in the study area

Lokasyonlar	<i>Amaranthus</i> spp.	Toplam <i>Hypolixus pica</i> (F.) sayısı			Toplam <i>Lixus subtilis</i> Boheman, 1835 sayısı		
		Larva	Pupa	Ergin	Larva	Pupa	Ergin
Batman	<i>A. albus</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>A. palmeri</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>A. retroflexus</i>	-	-	-	-	-	2
Diyarbakır	<i>A. albus</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>A. palmeri</i>	-	-	-	3	2	3
	<i>A. retroflexus</i>	-	-	-	-	-	-
Mardin	<i>A. albus</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>A. palmeri</i>	5	3	10	13	7	15
	<i>A. retroflexus</i>	-	-	-	-	-	-
Siirt	<i>A. albus</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>A. palmeri</i>	-	-	-	-	-	-
	<i>A. retroflexus</i>	2	-	-	17	9	17
Toplam		7	3	10	35	18	37

Avrupa kıtasında bulunan 21 *Amaranthus* türü üzerinde bulunan böcek türlerinin belirlenmesi amacıyla yürütülen çalışmalarda toplam 241 böcek türü saptanmıştır (El Aydam ve Bürki, 1997; Winston ve ark., 2017). Tür sayısı bakımından 48 tür ile Curculionidae (Coleoptera) familyası ilk sırada yer almıştır (Haseeb ve ark., 2006). Diğer bazı ülkelerde yapılan çalışmalarda ise Güneydoğu Anadolu bölgesinde de rastlanan *Hypolixus* spp.'nin *Amaranthus* türleri üzerinde beslendikleri belirlenmiştir (Kolaib ve ark., 1986; Louw ve ark.,

1995; Pourtahezare ve ark., 2010; Esfandiari ve Aynehand, 2012). Hatta daha önce Türkiye'de yürütülen bir çalışmada bu cins içerisinde yer alan ve bu çalışmada Güneydoğu Anadolu Bölgesinde rastlanan *Hypolixus pica* (F.) türünün *A. retroflexus*, *A. palmeri* ve *A. spinosus* türlerinin biyolojik kontrol ajanı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Gültekin ve Koryataev 2012; Pehlivan ve ark., 2022). Yürütülen çalışma ile hem saha incelemeleri, hem de laboratuvar gözlemlerinde *H. pica* türünün *A. palmeri* biyolojik mücadelesinde

potansiyeli yüksek bir biyolojik ajan olduğu belirlenmiştir. Ancak *H. pica*'nın badem ve şeftali ağaçlarının yaprakları ile beslendiği ve zarara neden olduğu belirtildiğinden (Özbek, 2014), bu türün biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılmasının önemli riskler taşıdığı sonucuna varılmıştır.

Çalışmada *A. retroflexus* ve *A. palmeri* üzerinde ikinci tür olarak *Lixus subtilis* de tespit edilmiştir. Bu böceğin ilgili *Amaranthus* türlerinin yaprak ve gövdesinde beslendiği, yumurtalarını gövde içerisine bıraktığı ve larva ile pupa dönemlerini gövde içinde tamamladığı saptanmıştır. *L. subtilis* larvalarının *Amaranthus* bitkilerinin gövde içinde tüneller açması nedeniyle ilgili bitkilerin iletim demetlerine zarar verdiği ve böylece bitkilerde belli bir süre sonra sararmalara ve ardında kurumalara neden olduğu gözlenmiştir. Ön çalışmalarda kontrol ile kıyaslandığında, böcek popülasyonundaki artışa bağlı olarak konukçu bitkilerde (özellikle 4-6 yapraklı genç dönemlerde) gelişimin yavaşladığı veya büyümeyi engellediği belirlenmiştir (Şekil 3 ve Şekil 4). Benzer bulgulara farklı araştırmalarda da rastlanılmıştır. Örneğin; *A. retroflexus*'un *L. subtilis* türünün konukçusu olduğu, bu böceğin *A. retroflexus* üzerinde beslendiği ve bitkinin gelişimini olumsuz etkilediği rapor edilmiştir. (Bürki, 1997; Bürki ve ark., 2001). Bu sonuçlar *H. pica*'dan farklı olarak *L. subtilis*'in *Amaranthus* türlerinin mücadelesinde etkili olabileceğini göstermektedir. Aynı familyadan olsa dahi farklı türlerin *Amaranthus* türlerini başarıyla baskılayabilmesi ve potansiyel kontrol ajanı olarak önerilmesi bu yargıyı destekler mahiyettedir (Balsbaugh ve ark., 1981; Bürki ve ark., 1997; Bürki ve ark., 2001). Bu çalışmada belirlenen her iki böcek türü her ne kadar *A. retroflexus* ve *A. palmeri* ile beslenebildiği ve biyolojik dönemlerini tamamlayabildiği tespit edilmiş (Tablo 1) olsa da bu türlerin *H. pica*'nın tarım ürünleri ile de beslenen polifag bir zararlı olması (Özbek, 2014) farklı yönlerde risklere neden olabileceğinden doğrudan biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılması önerilmemektedir. Ancak, bu aşamada vurgulamak gerekir ki 2022-2023 yıllarında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi uygulama alanında yetiştirilen

pamuk ekim alanlarında dağılım gösteren *A. palmeri* üzerinde her iki böcek türünün de beslendiği ve biyolojik dönemlerini geçirdiği tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu durum dikkate alınarak, ilgili böcek türlerinin doğal ekosistemde popülasyon yoğunluklarının yüksek olması durumunda hedef bitkilerde etkinlik düzeylerinin yüksek olabileceği yargısına varılmıştır.

Genel olarak yabancı türler sahip oldukları üstün özelliklerin (örneğin; faklı toprak ve iklim faktörlerine tolerans) yanı sıra yeni tanıtıldıkları ekosistemlerde canlı (örneğin; doğal düşmanlar) faktörlerin baskısına maruz kalmadıklarından, savunma için harcamaları gereken kaynakları gelişme ile çoğalma için kullanarak yerli türlere nazaran çok daha rekabetçi hale gelebilir (Atay ve ark., 2015; Yazlık ve ark., 2018). Dolayısıyla, yeni ortam koşullarına hızla adaptasyon sağlayarak ortama yerleşen ve hızla yayılarak yeni alanlara yayılma eğiliminde olan yabancı türler (Hierro ve ark., 2013; Önen, 2015) tanıtıldıkları bu yeni bölgelerde seleksiyon baskısına da maruz kalmadıklarından istilacı olma potansiyelleri yükselebilir. Bu nedenle, doğal ekosistemlerde bu türleri kontrol altına alabilecek biyolojik mücadele ajanlarına (patojenler ve/veya böcekler) yönelik çalışmaların arttırılması önemlidir. Bu bağlamda yapılan bu çalışma ile Güney Amerika orijinli *A. retroflexus* ve *A. palmeri* (POWO, 2023) gibi Türkiye için yabancı bitki türlerine yönelik pozitif veriler elde edilmesiyle yakın gelecekte ilgili yabancı bitkilerin kontrolünde yapılabilecek ileri çalışmalara bir kaynak sağlamıştır. Özellikle Türkiye genelinde *A. retroflexus* ve *A. albus* türlerinin en önemli yabancı otlar arasında yer alması (Özer ve ark., 1999; Tepe, 2014; Güncan ve Karaca, 2018; Yazlık ve ark. 2018) ayrıca Türkiye genelinde *A. palmeri*'nin hızla yayıldığı ve önemli sorunlar oluşturduğunu bildiren çalışmalar (Eren ve ark., 2016; Sırrı, 2022; Erbas ve ark., 2024) dikkate alındığında ilgili türlerin yönetiminde kullanılabilecek biyolojik mücadele çalışmalarının Türkiye'nin tüm biyocoğrafik bölgelerinde de çalışılması yararlı olacaktır.

Sonuç ve Öneriler

Genel olarak kimyasal mücadele (herbisit kullanımı) *Amaranthus* türleri dahil olmak üzere yabancı otların kontrolünde en fazla tercih edilen yöntemlerin başında gelmektedir (Delen ve ark., 2010). Ancak herbisitlerin çevre ve insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri, direnç olayları, küresel ısınmanın ortaya çıkardığı yeni koşullar, çevre dostu ve sürdürülebilir uygulamalara daha fazla ihtiyaç olduğunu göstermekte ve biyolojik kontrol önemli bir alternatif olarak görülmektedir. Özellikle istilacı yabancı türlerin idaresinde biyolojik mücadele en etkili yöntemlerin başında gelmektedir. Bu durumlar dikkate alındığında; bu çalışma Türkiye’de pek çok bölgede özellikle tarımsal ekosistemlerde sorun teşkil eden *Amaranthus* türlerinin biyolojik mücadelesine yönelik az sayıda yapılan çalışmalara önemli bir katkı sağlar.

Saha ve laboratuvar gözlemleri, *H. pica* ve *L. subtilis* böcek türlerinin *A. retroflexus* ve *A. palmeri*’nin farklı vejetatif organları (yaprak, gövde ve kök) üzerinde beslenebildikleri, biyolojik dönemlerini tamamlayabildiklerini ve bu yabancı otların gelişimi ile tohum oluşturma performanslarını düşürdüklerini göstermiştir. Özellikle *L. subtilis* türünün *A. retroflexus* ve *A. palmeri* üzerindeki zarar düzeyi dikkat çekicidir. Sonuç olarak, ilgili böcek türlerinin popülasyon yoğunluklarının doğal ortamda yüksek olmaması durumunda *A. retroflexus* ve *A. palmeri* türlerini baskı altına alması mümkün görülmemektedir. Bu nedenle, ilgili böcek türlerinin *Amaranthus* türlerinin biyolojik mücadelesinde kullanma olanaklarının sağlanabilmesi için konukçu test çalışmaları ve ilgili böcek türlerinin yetiştirilmesi yönünde çalışmalar başta olmak üzere konuya ilişkin ileri laboratuvar ve saha çalışmalarının yapılması önerilmektedir.

Teşekkür

Yabancı otların teşhisleri için Siirt Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet FİDAN, böceklerin teşhisleri Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji

Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Osman SERT ve Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Dr. Öğretim Üyesi Neslihan BAL’a teşekkür ederim.

Çıkar Çatışması: Yazar tarafından herhangi bir çıkar çatışması beyan edilmemiştir

Etik Kurulu Kararı: Yayın etik kurulu gerektirmemektedir.

Kaynaklar

- Atay, T., Asav, Ü., Önen, H., & Kara, K. (2015). *İstilacı Yabancı Otlarla Biyolojik Mücadele*. Ed. H. Önen, *Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu*. (s. 81-118). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı; Ankara.
- Aytaç, N., Yüzügüllü, D. A., Demirhindi, H., & Gönültaş, T. (2017). Pestisit Kullanımının Halk Sağlığı Etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26(4), 540-551. doi:10.17827/aktd.303904
- Balsbaugh E.U., Jr Frye, R.D., Scholl, C.G., & Anderson, A.W. (1981). Insects for weed control: status in North Dakota. *North Dakota Farm Research*, 39, 3-7.
- Bürki H.M. (1997). *Investigations on the feasibility of biological control of pigweeds (Amaranthus retroflexus L., A. powellii S. Wats. and A. bouchonii Thell.) with Phytophagous Insects*, Fungal Pathogens and Crop Management. University of Bern, PhD Thesis, Switzerland.
- Bürki H.M., Schroeder, D., Lawrie, J., Cagán, L., Vráblová, M., El Aydam, M., Szentkirályi, F., Ghorbani, R., Jüttersonke B., & Ammon, H.U. (1997). Biological control of pigweeds (*Amaranthus retroflexus* L., *A. powellii* S. Watson and *A. bouchonii* Thell.) using phytophagous insects, fungal pathogens and crop management. *Integrated Pest Management Reviews*, 2, 51–59.
- Bürki, H. M., Lawrie, J., Greaves, M. P., Down, V. M., Jüttersonke, B., Cagán, L., Vráblová, M., Ghorbani, R., Hassan, E.A., & Schroeder, D. (2001). Biocontrol of *Amaranthus* spp. in Europe: state of the art. *BioControl*, 46, 197-210. <https://doi.org/10.1023/A:1011461523079>
- Carvalho-Moore, P., Norsworthy, J.K., González-Torralva, F., Hwang, J.I., Patel, J.D., Barber, L. T., Butts, T.R., & McElroy, J.S. (2022). Unraveling the mechanism of resistance in a glufosinate-resistant Palmeramaranth (*Amaranthus palmeri*) accession. *Weed Science*, 70(4), 370-379.
- Caiati, C., Pollice, P., Favale, S., & Lepera, M. E. (2020). The herbicide glyphosate and its apparently controversial effect on human health: An updated clinical perspective. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 20(4), 489-505. DOI:

- 10.2174/1871530319666191015191614.
- Colonnelli, E. (2004). Catalogue of Ceutorhynchinae of the world, with a key to genera (In secta: Coleoptera: Curculionidae), Argna, Barcelona, 3-124.
- Cullen, J.M., Palmer, W.A., & Sheppard, A.W. (2023). Biological control of weeds in Australia: The last 120 years. *Austral Entomology*, 62(2), 133-148.
- Davis, P.H. (1965-1970) Flora of Turkey. Edinburgh University Press. 22. George Square, Edinburgh. North America Volume 1-11.
- Day, M.D., & Witt, A.B.R. (2019). Weed Biological Control: Challenges and Opportunities, *Weeds – Journal of Asian-Pacific Weed Science Society*, 1(2), 34-44.
- Delen, N., Kinay, P., Yıldız, F., Yıldız, M., Altınok, H. H., & Uçkun, Z. (2010). Türkiye tarımında kimyasal savaşımın durumu ve entegre savaşım olanakları. *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi*, (s. 609-625), 11-15 Ocak 2010, Ankara.
- Demir, A., & Tepe, I. (2001). Distribution and density of weeds in chickpea cultivation areas in Diyarbakır province in Turkey. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 4(1), 21-29.
- Doğan, S., Özçelik, S., Dolu, Ö., & Erman, O. 2010. Küresel ısınma ve biyolojik çeşitlilik. *İklim Değişikliği ve Çevre*, 3, 63-88.
- El-Aydam, M., & Bürki, H. M. (1997). Biological control of noxious pigweeds in Europe: a literature review of the insect species associated with *Amaranthus* spp. worldwide. *Biocontrol News and Information*, 18(1), 11-20.
- Erbas, F., Dogan, M. N., Turkseven, S. G., Ongun, A. R., Pinar, S., Tunali, C. U., & Ertem, A. A. P. M. (2024). A survey on Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri* S. Wats.) in Cukurova region of Türkiye. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 61(1). DOI:10.21162/PAKJAS/24.221
- Eren, Ö., Doğan, M.N., Boz, Ö., Türkseven, S., & Özcan, R. (2016). *Amaranthus palmeri* L. [In: Raab-Straube, E. von & T. Raus, (Editors), Euro+Med-Checklist Notulae, 6], Willdenowia. 423-424, 437-441.
- Ergun, M., Özbay, N., Osmanoğlu, A., & Çalkır, A. (2014). Sebze ve Tahıl Olarak Amaranth (*Amaranthus* spp.) Bitkisi, *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(3), 21-28.
- Esfandiari, M., & Aynehand, A. (2012). First report on damages caused by an insect pest on *Amaranth* crop in Iran. *Plant Pest Research*, 2(1), 67-70.
- Farooq S., Önen H., & Özcan S. (2015). *İstilacı Yabancı Bitkilerin Etkileri (Impacts of invasive alien plants)*. Ed. H. Önen, *Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu*: (s. 14-35). T.C. Gıda, Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı; Ankara.
- Garvey, P.V., Meyers, S.L., Monks, D.W., & Coble, H.D. (2013). Influence of Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*) on the Critical Period for Weed Control in Plasticulture-Grown Tomato. *Weed Technology*, 27(1), 165-170.
- Güncan, A. (2014). Yabancı ot mücadelesi. Selçuk Üniversitesi Yayınevi, Konya.
- Güncan, A., & Karaca, M. (2018). Yabancı Ot Mücadelesi (Güncellenmiş ve İlaveli Dördüncü Baskı) Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Konya. (ISBN:975-448-178-4).
- Haseeb, M., O'Brien, C.W., Flowers, R.W., & Kairo, M.T.K.M. (2006). *Identification tool for weevil biological control agents of aquatic and terrestrial weeds in the United States and Canada*. Lucid Key (Ver. 3.3), December, 2006.
- Hierro J.L., Eren, Ö., Chiuffo M.N., & Villarreal, D. (2013). Non-native conditions favor nonnative populations of invasive plant: demographic consequences of seed size variation? *Oikos*, 122(4), 583-590.
- Huang, Z., Cui, H., Wang, C., Wu, T., Zhang, C., Huang, H., & Wei, S. (2020). Investigation of resistance mechanism to fomesafen in *Amaranthus retroflexus* L. *Pesticide biochemistry and physiology*, 165, 104560.
- Kolaib, M.O., Younes, M.W.F., & Darwish, E.T.E. (1986). *Hypolixus nubilosus* as a factor in biological control of *Amaranthus* weeds in Egypt. *Annals of Agricultural Science (Cairo)*, 31(1), 767-776.
- Lee, C. (2011). Grain Amaranth. University of Kentucky, College of Agriculture, Cooperative Extension Service, July 2011. <http://www.uky.edu/Ag/CCD/introsheets/amaranth.pdf> (Erişim tarihi: 19.09.2023).
- Li, W., Cao, Y., Liu, Z., Wei, S., Huang, H., Lan, Y., Sun, Y., & Huang, Z. (2022). Investigation of resistance mechanisms to bentazone in multiple resistant *Amaranthus retroflexus* populations. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 186, 105164.
- Louw, S., Van Eeden, C. F., & Weekds, W.J. (1995). Curculionidae (Coleoptera) associated with wild and cultivated *Amaranthus* spp.(Amaranthaceae) in South Africa, *African Crop Science Journal*, 3(1), 93-98.
- Mahoney, D.J., Jordan, D.L., Hare, A.T., Leon, R.G., Roma-Burgos, N., Vann, M.C., & Cahoon, C.W. (2021). Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) growth and seed production when in competition with peanut and other crops in North Carolina. *Agronomy*, 11(9), 1734.
- Mlakar, S.G., Turinek, M., Jakop, M., Bavec, M., & Bavec, F. (2010). Grain amaranth as alternative and perspective crop in temperate climate. *Journal of Geography*, 5(1), 135-145.
- Mosyakin, S.L., & Robertson, K.R. (2004). *Amaranthus* L. *Flora of North America Editorial Committee*, (edlr.). Flora of North America North of Mexico [Online] 4. New York and Oxford:(Erişim;19.09.2023).
- Napompeth, B. (1982). Biological research and development in Thailand. In *Proceedings of the International Conference on Plant Protection Tropics*, (pp. 301–303). Malaysian Plant Protection Society.
- Norsworthy, J.K., Griffith, G.M., Scott, R.C., Smith, K.L., & Oliver, L.R. (2008). Confirmation and control glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) in Arkansas. *Weed Technology*, 22(1), 108-113.
- Önen, H., Farooq, S., Muñoz-Rodríguez, P., Alharbi, S. A., & Alfarraj, S. (2023). *Ipomoea tricolor* (Convolvulaceae) in Turkey: New occurrence record and potential spread areas under current climatic conditions. *Journal of King Saud University-Science*, 35(3), 102543.
- Önen, H. (2010a). *Küresel ısınma ve biyolojik çeşitlilik*. Ed. Y.

- Serin, Küresel İklim Değişimine Bağlı Sürdürülebilir Tarım Cilt II: (s. 134-154). YİBO Eğitimi., Erciyes Üniversitesi Yayın No:177, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Yayın No:1, Fidan Ofset, Kayseri.
- Önen, H. (2010b). *Organik ve İyi Tarım (EUREP-GAP) Uygulamaları*. Ed. Y. Serin, *Küresel iklim Değişimine Bağlı Sürdürülebilir Tarım Cilt II*: (s. 146-169). YİBO Eğitimi., Erciyes Üniversitesi Yayın No:177, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Yayın No:1, Fidan Ofset, Kayseri.
- Önen, H., & Özcan, S. (2010). *İklim değişikliğine bağlı olarak yabancı ot mücadelesi*. Ed. Y. Serin, Eds. *Küresel iklim değişikimine bağlı sürdürülebilir tarım Cilt II*: (s. 336-357). YİBO Eğitimi, Erciyes Üniversitesi Yayın No: 177, Erciyes Üniversitesi Seyrani Ziraat Fakültesi Yayın No: 1, Fidan Ofset, Kayseri,
- Önen, H. (2015). *İstilacı Yabancı Türler ve İstila Süreçleri*. Ed. H. Önen, *Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu*: (s. 1-13). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ezgi Ofset Matbaacılık, Ankara. ISBN: 978-605-9175-05-0.
- Özaslan, C., & Kendal, E. (2014). Determination of the weeds in production areas of Lice tomato, *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*. 4(3), 29-34.
- Özaslan, C., Akin, S., & Gürsoy, S. (2015). Weed control and crop production practices in cotton production in Diyarbakir Province of Turkey. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 25(1), 41-47.
- Özaslan, C., Farooq, S., & Onen, H. (2017). Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri* S. Watson): A new addition to the alien flora of South Eastern Anatolia. 26th Asian Pacific Weed Science Society Conference, (p. 293), 19-22 Semyember 2017, Kyoto Japan.
- Özbek, H. (2014). *Hypolixuspica* (Faust)(Coleoptera: Curculionidae) feeding on almonds in Antalya. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 4(1), 55-59.
- Özcan, S., Tetik, Ö., Torun, H., & Özaslan, C., 2015. *Amaranthus spinosus* L. Ed. H. Önen, *Türkiye İstilacı Bitkiler Kataloğu*: (s. 172-182). T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ezgi Ofset Matbaacılık, Ankara. ISBN: 978-605-9175-05-0.
- Özer, Z., Önen, H., Tursun, N., & Uygur, F.N. (1999). *Türkiye'nin Bazı Önemli Yabancı Otları (Tanımları ve Kimyasal Savaşmaları)*. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:38 Kitap Serisi No:16, Tokat.
- Pala, F., & Mennan, H. (2016). Güneydoğu Anadolu Bölgesi pamuk alanlarında bulunan horzibiği (*Amaranthus* spp.) türlerinin, yaygınlıklarının ve yoğunluklarının belirlenmesi, *Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(2), 139-148.
- Pehlivan, S., Erbey, M., & Atakan, E. (2022). The weevil, *Hypolixus pica* (F.)(Coleoptera: Curculionidae) as a potential biological control agent of *Amaranthus* species (Amaranthaceae) in Adana Province, Turkey. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 13(2), 118-127.
- Pourtaherzarei, R. A., Shishebor, P., & Eslamizadeh, R. (2010). A study of the biology of amaranth stem-boring weevil, *Hypolixus pica* (Fabricius) on red root pigweed, *Amaranthus retroflexus* L. in Dezful. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 41(2), 225-232.
- POWO (2023). Welcome to Plants of the World Online, <https://powo.science.kew.org/> (Erişim: 5.02.2024)
- Schroeder, D., Müller-Scharer, H., & Stinson, C.S.A. (1993). A European weed survey in 10 major crop systems to identify targets for biological control. *Weed Research*, 33(6), 449-458.
- Sert, O. (1995). İç Anadolu Bölgesi Curculionidae (Coleoptera) familiyası üzerinde taksonomik çalışmalar, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-184.
- Sırrı, M. (2022). Güneydoğu Anadolu Bölgesi için Yeni Bir Risk *Amaranthus palmeri*. *MAS Journal of Applied Sciences*, 7(4), 1072-1090.
- Sırrı, M., Özaskan, C., Sert, O., & Alfarraj, S. (2022). Natural enemies feeding on some *Centaurea* species in the Yüksekova basin. *Journal of King Saud University-Science*, 34(6), 102215.
- Snodgrass, G.L., Scott, W.P., & Smith, J.W. (1984). Host plants and seasonal distribution of the tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) in the Delta of Arkansas, Louisiana, and Mississippi. *Environmental Entomology*, 13(1), 110-116.
- Tepe, I. (2014). *Yabancı Otlarla Mücadele*. Ed. I. Tepe, İzmir: Sidas Medya Ziraat Yayın No: 031. (ISBN NO: 978-605-5267-17-9).
- Tozlu, G., Çorlu, İ., & Gültekin, L. (2010). Türkiye'de *Amaranthus* (Amaranthaceae) Türlerine Karşı Biyolojik Mücadelede Böceklerin Kullanımı, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2), 169-176.
- Uludag, A., Arslan, Z.F., Kütük, H., & Jabran, K. (2022). A preliminary study on arthropods as potential biological control agents for management of alien ornamental plants in Turkey. *Acta Herbologica*, 31(1), 27-42.
- Uludağ, A., Aksoy, N., Yazlık, A., Arslan, Z. F., Yazmış, E., Üremiş, I., Cossu, T., Groom, Q., Pergl, J., Pyšek, P., & Brundu, G. (2017). Alien flora of Turkey: checklist, taxonomic composition and ecological attributes. *NeoBiota*, 35, 61-85. <https://doi.org/10.3897/neobiota.35.12460>.
- Uygur, S., Tetik, Ö., & Koca, A.D. (2021). Türkiye için yeni bir yabancı ot türü: *Amaranthus crassipes* Schltdl. (Horzibiğigiller/AmaranthaceaeJuss.). *Bağ Bahçe Bilim Dergisi*, 8(2), 7-11.
- Uygur, S., & Uygur, F. N. (2010). Yabancı otların biyolojik mücadelesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 1(1), 79-95.
- Van Bruggen, A. H., Finckh, M. R., He, M., Ritsema, C. J., Harkes, P., Knuth, D., & Geissen, V. (2021). Indirect effects of the herbicide glyphosate on plant, animal and human health through its effects on microbial communities. *Frontiers in Environmental Science*, 9, 763917. doi.org/10.3389/fenvs.2021.763917
- Ward, S. M., Webster, T. M., & Steckel, L. E. (2013). Palmer Amaranth (*Amaranthus palmeri*): A Review. *Weed Technology* 27(1), 12-27.
- Winston, R., Randall, C.B., Blossy, B., Tipping, P.W., Lake, E.C. & Hough-Goldstein, J. (2017). *Field guide for the biological control of weeds in eastern North America*. US Department of Agriculture, Forest

Service, Forest Health Technology Enterprise Team.
Winston, R.L., Schwarzlander, M., Hinz, H.L., Day, M.D., Cock,
M.J.W., & Julien, M.H. (2023). *Biological Control of
Weeds: A World Catalogue of Agents and Their
Target Weeds*. Based on FHTET-2014-04, USDA
Forest Service, Forest Health Technology Enterprise

Team. Available online at
<https://www.ibiocontrol.org/catalog/> [Erişim: 24
Kasım 2023].
Yazlık, A., Pergl, J., & Pyřek, P. (2018). Impact of alien plants
in Turkey assessed by the Generic Impact Scoring
System. *NeoBiota*, 39, 31-51.



Kahramanmaraş İli salçalık biber (*Capsicum annuum* var. *conoides*) alanlarındaki thrips türleri ve popülasyon yoğunluklarının belirlenmesi

Determination of thrips species and population densities in paste pepper (Capsicum annuum var. conoides) areas in Kahramanmaras Province, Türkiye

Alper KOZANOĞLU¹ , Mahmut Murat ASLAN^{2*} , Ekrem ATAKAN³ , Zehra Sena GÖZÜBENLİ⁴

^{1,2,4}Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye

³Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-6145-2041>; ²<https://orcid.org/0000-0002-4586-1301>; ³<https://orcid.org/0000-0001-7352-4815>; ⁴<https://orcid.org/0000-0002-4949-9223>

To cite this article:

Kozanoğlu, A., Aslan, M. M., Atakan, E. & Gözübenli, Z. S. (2024). Kahramanmaraş İli salçalık biber (*Capsicum annuum* var. *conoides*) alanlarındaki thrips türleri ve popülasyon yoğunluklarının belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 82-93
DOI: 10.29050/harranziraat.1393495

*Address for Correspondence:

Mahmut Murat ASLAN
e-mail:
aslan@ksu.edu.tr

Received Date:

20.11.2023

Accepted Date:

23.02.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ÖZ

Bu çalışma, 2019 yılında Kahramanmaraş İli Dulkadiroğlu İlçesinde salçalık biber (*Capsicum annuum* var. *conoides*) yetiştiriciliği yapılan üretim alanlarındaki thrips (Thysanoptera) türleri ve popülasyon yoğunluklarını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Örneklemelerde; çiçek, yaprak örneklemeleri ve CDC böcek aspiratörü kullanılmıştır. Kullanılan bu yöntemler sonucunda Thripidae familyasına bağlı üç tür, Aeolothripidae familyasına bağlı bir tür olmak üzere toplam dört tür tespit edilmiştir. Bunlar Thripidae familyasından *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895), *Frankliniella intonsa* (Trybom, 1895), *Thrips tabaci* Lindeman, 1889 ve Aeolothripidae familyasından *Aeolothrips intermedius* (Bagnall, 1934)'dur. Yapılan bu çalışma sonucunda tüm örneklemelerde en yaygın ve en yüksek yoğunlukta görülen türün *Frankliniella occidentalis* olduğu belirlenmiştir. Avcı thrips *Aeolothrips intermedius* yoğunluğunun en düşük düzeyde bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Thysanoptera, Thrips, Salçalık Biber, Popülasyon Yoğunluğu, Kahramanmaraş

ABSTRACT

This study was conducted to determine thrips (Thysanoptera) species and population densities in production areas where paste pepper (*Capsicum annuum* var. *conoides*) was grown in Dulkadiroğlu District of Kahramanmaras Province in 2019. For example, flower and leaf samples, and a CDC insect aspirator were used. As a result of these methods, four species were identified: three species belonging to the family Thripidae and one to the family Aeolothripidae. These are *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895), *Frankliniella intonsa* (Trybom, 1895), *Thrips tabaci* Lindeman, 1889 of the family Thripidae, and *Aeolothrips intermedius* (Bagnall, 1934) of the Aeolothripidae family. As a result of this study, *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) was found to be the most abundant species in all samples. The predator thrips *Aeolothrips intermedius* was found to have the lowest density.

Key Words: Thysanoptera, Thrips, Paste Pepper, Population Density, Kahramanmaras

Giriş

Salçalık biber (*Capsicum annuum* var. *conoides*) Solanaceae familyası, *Capsicum* cinsi içerisinde yer almaktadır. *Capsicum* sp., askorbik asit, tokoferol ve diğer fitokimyasalların önemli bir kaynağıdır (Paksoy ve Uslu, 2006). Askorbik asit ve fenolik bileşikler, kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon, inme ve nörodejeneratif bozukluklar gibi oksidatif stres aracılı kronik hastalıkların önlenmesine yardımcı olur, böylece biberin beslenme ve ticari kalitesinde önemli bir rol oynar (Deepa ve ark., 2006). Salçalık kırmızı biber, A ve C vitaminleri bakımından zengin bir sebzedir (Doymaz ve Pala, 2002; Akbay ve ark., 2012). Ayrıca kalsiyum, fosfor ve potasyum minerallerini de içeren ve zararlı kimyasallara karşı insan vücudunun bağışıklığını artıran bir besin kaynağıdır (Çuhadar, 2008; Akbay ve ark., 2012). Dünyada biber üretimi 2021 yılında 36286644 milyon tondur. Dünya biber üretiminin ilk sırasında 16721690 ton ile Çin, ikinci sırasında 31071109 ton ile Türkiye yer almaktadır (FAO, 2021). Türkiye'nin 1481612 ton salçalık biber üretimi 362989 dekar alanda yapılmaktadır. Kahramanmaraş ilinde ise 17255 ton biber üretiminin 7856 tonu salçalık biber olarak üretilmektedir. Salçalık biber üretiminde sırasıyla Marmara Bölgesi, Akdeniz Bölgesi, Ege Bölgesi ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi yer almaktadır (TUİK, 2022).

Biber üretiminde, birçok zararlı böcek zarar vermekte ve bunlar ile mücadele önem kazanmaktadır. Biberde zararlı olan böcek türleri; thrips, beyazsinek (*Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889)), biber gal sineği (*Asphondylia capsici* Barnes, 1932), yaprak galeri sineği (*Liriomyza trifolii* Burgess, 1880), yeşilkurt (*Helicoverpa armigera* Hubner, 1808), yaprakbitleri (*Aphis* spp.)'dir (Anonim, 2018). Thripsler ağız yapılarının karakteristik özelliği nedeniyle (asimetrik, kısa konik, sokucu-emici) özellikle (Jeppson ve ark., 1975), bitkilerin çiçek, meyve, yaprak gibi organlarında bitki özsuğunu emerek ciddi oranlarda kayıplara neden olmaktadır (Childers ve Beshear, 1992; Childers ve Achor, 1995). Ergin ve larvaları, bitki dokularının yüzey kısmında

beslenerek yaprakta karakteristik gümüşü lekeler oluşturup, yoğun popülasyonlarda yaprağın dökülmesine, böylece bitkinin zayıf kalıp veriminin düşmesine, ürün kalitesinin bozulmasına, beslenme sırasında salgıladıkları toksik maddeler ile de sürgün ve meyvelerde şekil bozukluklarına neden olurlar (Lodos, 1984). Thripsler yaprağa bıraktıkları koyu renkli dışkılarıyla yaprakta siyahımsı lekeler oluşturmakta, daha çok gelişmekte olan yaprakları tercih ederek beslenmekte, bitkinin uç noktalarında beslenerek rozet oluşumuna, çiçeklerde beslenerek deformasyonlara neden olmaktadır (Loomans ve ark., 1995). Shipp ve ark. (1998) üç farklı serada sarı yapışkan tuzaklar kullanılarak *Frankliniella occidentalis*'in ekonomik zarar seviyelerini belirleyip, bu tür nedeniyle oluşan zararı rapor etmişlerdir. *Frankliniella occidentalis* çileğin çiçek ve meyvesinin bitki özsuğunu emerek, çiçek dökümü ile verim düşüklüğüne, meyvenin küçük, sert ve çekirdekli olmasına, düzensiz olgunlaşmasına, bronzlaşmasına ve şekil bozukluğuna neden olmaktadır (Coll ve ark., 2007; Anonymous, 2010). Bununla birlikte *F. occidentalis*'in bazı bitki virüslerinin taşınmasında da önemli rol oynamaktadır ve bu yönden de önemli zararlı olarak bilinmektedir (Sakura ve ark., 2004),

Kahramanmaraş ilinde biber yetiştiriciliği oldukça önemlidir ve yetiştiriciliği yapılan salçalık biber de thrips türleri ve bunların popülasyon yoğunlukları ile ilgili kapsamlı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, Kahramanmaraş ili için ekonomik açıdan önemli yer tutan salçalık biber yetiştiriciliği yapılan üretim alanlarındaki thrips türlerini ve popülasyon yoğunluklarını ortaya çıkarmak amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmanın ana materyalini Kahramanmaraş ili Dulkadiroğlu ilçesindeki salçalık biber yetiştiriciliği yapılan arazilerdeki (7 dekarlık) thrips (larva ve ergin) türleri oluşturmuştur. Örneklemelerde; CDC böcek aspiratörü, polietilen

poşetler, %70'lik alkol, Eppendorf plastik tüpler, pens, petri kapları, samur fırça, şeffaf eldiven ve buz kabı kullanılmıştır.

Metot

Çalışma 2019 yılında Kahramanmaraş İli Dulkadiroğlu İlçesindeki salçalık biber yetiştiriciliği yapılan üretim alanlarında yürütülmüştür. Thrips türleri (larva ve ergin) ve popülasyon yoğunluklarının belirlenmesinde; çiçek, yaprak örneklemeleri ve CDC böcek aspiratörü kullanılmıştır.

Çiçek ve yaprak örneklemeleri

Çalışma alanlarında arazinin köşegen kısımlarından girilerek 20-25 adımda bir olmak üzere toplamda her tarladan rastgele seçilen biber fidanlarından 50'şer adet çiçek ve yaprak örnekleri alınarak ayrı ayrı polietilen torbalar içerisine etiket bilgilerinde ekleyerek buz kabı içerisine konulmuştur. Laboratuvara getirilen örnekler böceklerin yaşamsal fonksiyonlarının azalması için yarım saat buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra alınan çiçek ve yaprak örneklerini beyaz bir zemin üzerinde silkeleyerek düşen thrips bireyleri (larva ve ergin) samur fırça yardımıyla toplanarak içerisinde %70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüplerine alınmıştır.

CDC böcek aspiratörüyle örnekleme

Çalışma alanlarında CDC böcek aspiratörü 15 dakika çalıştırılarak arazi içerisinde çapraz hareket edilerek alınan örnekler polietilen torbalar içerisine alınıp etiket bilgileri yazılarak buz kabı içerisinde laboratuvara getirilmiştir. Laboratuvara getirilen thrips bireylerinin (larva ve ergin) yaşamsal fonksiyonlarının azalması için yarım saat buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra bireyler samur fırça yardımıyla toplanarak içerisinde %70'lik etil alkol bulunan Eppendorf tüplerine konulmuştur.

Thrips preparatı ve teşhisi

Thripslerin preparatı, Mound ve Kibby (1998) tarafından belirtilen protokolde değişiklikler yapılarak yapılmıştır. Bu amaçla; örnekleme

alanındaki salçalık biber çeşitlerinden toplanan örnekler, önce, örneklerin yumuşaması ve böylelikle preparatlarının kolaylaştırılması amacıyla AGA (10 kısım etil alkol, bir kısım glacial asetik asit ve bir kısım gliserin) içeren ortamda iki gün bekletilmiştir. Örnekler daha sonra % 10'luk sodyum hidroksit (soğuk) içeren cam hücreler içerisine alınarak 47 °C sıcaklıkta yaklaşık 40 dk bekletilmiştir. Koyu örneklerde bu süre biraz daha uzun süre (yaklaşık bir saat) tutulmuştur. Örneklerde hafif renk değişim olunca ve ayrıca kanatların açıldığı görülünce örnekler % 96 alkol içeren ortama alınmıştır. Örnek birey petri kapları içerisinde bu ortamda bir süre bekletilmiş olup, daha sonra çok ince uçlu iğne yardımıyla ya arka bacakların coxa kaidelerinden girilerek ya da abdomen sıvazlanarak vücut içeriği boşaltılmıştır. Örnekler alkol ile temizlendikten sonra Hoyer ortamına alınarak mikroskopik slaytları dorsalden yapılmıştır. Preparatı yapılan örnekler 47 °C de yaklaşık bir hafta kurumaya bırakılmıştır. Preparatı yapılan thrips bireylerinin teşhisleri, Prof. Dr. Ekrem ATAKAN (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Adana) tarafından yapılmıştır. Ayrıca preparatı yapılan thrips örneklerinin fotoğrafları Nikon SMZ 1270i markalı sterero mikroskop ile çekilmiştir.

Çalışma süresince Kahramanmaraş İli Çiğli Köyünün nem, sıcaklık ve rüzgâr hızı verileri T.C. Çevre Şehircilik ve İklim Değişikliği Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü, Meteorolojik Veri İşlem Dairesi'nden alınmıştır. Daha sonra meteorolojik veriler ile thrips türleri ve popülasyon yoğunlukları arasındaki ilişki incelenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Kahramanmaraş İli Dulkadiroğlu İlçesindeki salçalık biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda Thripidae familyasına bağlı üç tür, Aeolothripidae familyasına bağlı bir tür olmak üzere toplam dört tür tespit edilmiştir. Bunlar: Thripidae familyasından *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895), *Frankliniella intonsa* (Trybom, 1895), *Thrips tabaci* Lindeman ve Aeolothripidae familyasından

Aeolothrips intermedius (Bagnall, 1934)'dur (Çizelge 1).

Çizelge 1. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyünde 2019 yılında salçalık biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda tespit edilen thrips türleri
Table 1. Thrips species detected in areas where paste peppers were grown in Çiğli Village of Kahramanmaraş Province in 2019

Familiya	Tür	Toplam Birey Sayısı (adet)	Yüzdelik Oranı
Thripidae	<i>Frankliniella occidentalis</i> (Pergande 1895)	1438	% 90.38
	<i>Frankliniella intonsa</i> (Trybom1895)	83	% 5.21
	<i>Thrips tabaci</i> Lindeman	23	% 1.44
Aeolothripidae	<i>Aeolothrips intermedius</i> (Bagnall 1934)*	47	% 2.97

*Avcı thrips türü

Salçalık biber alanlarında tespit edilen thrips türlerinin tanımlanması

Frankliniella occidentalis (Pergande, 1895)



Şekil 5. *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) ergini (Anonim 2019)

Figure 5. *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895) adult (Anonymous 2019)

Vücut renkleri mevsime bağlı olarak soluk sarıdan koyu kahverengiye kadar değişiklik gösterebilir (Anonim, 2015). *Frankliniella occidentalis* erkek bireyleri dişi bireylere göre daha küçüktür. Yumurtası 0.25 mm uzunluğunda, soluk sarı ve şekli böbreğe benzemektedir (Anonim, 2008). Anten sekiz segmentli ve kahverengi, kanat rengi ise şeffaf beyaz renktedir. Ön kanatlardaki iki damarda da tam sıralı seta dizilimi vardır (Mound ve Kibby, 1998). Kışı genellikle ergin olarak

geçirmektedirler (Anonim, 2008). *F. occidentalis* polifag bir zararlı olup örtü altı sebze ve meyvelerde, süs bitkilerinde ve çeşitli yabancı otlarda beslendiği tespit edilmiştir (Reed ve Reinecke, 1990; Klein ve Ben Dov, 1991; Tommasini ve Maini, 1995; Atakan ve Tunç, 2004; Kılıç ve Yoldaş, 2004; Özsemerci ve ark., 2006; Nas ve ark., 2007; Atakan, 2008b; Öztürk ve Atakan, 2008; Atakan, 2009; Atakan, 2011; Tunç ve ark., 2012a; Can ve Ulusoy, 2022; Younus ve ark., 2023).

Frankliniella intonsa (Trybom, 1895)



Şekil 6. *Frankliniella intonsa* (Trybom, 1895) ergini (♀)

Figure 6. *Frankliniella intonsa* (Trybom, 1895) adult (♀)

Frankliniella intonsa erkek bireylerinin vücut rengi soluk kahverengi ve dişi bireylere göre daha küçüktür. Dişi bireylerin vücut rengi kahverengi, abdomenleri ise vücuda göre daha koyu kahverengidir. Anten 8 segmentli ve genellikle sarı renktedir (Anonymous, 2014). *Frankliniella intonsa* polifag bir zararlı olup en çok yem bitkisi olarak

kullanılan *Trifolium repens*, *T. pratense*, biber ve bağlarda beslendiği tespit edilmiştir (Lodos, 1993; Kaplan ve ark. 2016; Kaplan ve Bayhan, 2018; Can ve Ulusoy, 2022; Younus ve ark., 2023).

Thrips tabaci (Lindeman, 1889)



Şekil 7. *Thrips tabaci* (Lindeman, 1889) ergini (Alston, 2011)

Figure 7. *Thrips tabaci* (Lindeman, 1889) adult (Alston, 2011)

Thrips tabaci erginlerinin vücut renkleri sıcaklığa bağlı olarak soluk sarıdan koyu kahverengiye kadar değişiklik gösterebilir (Anonymous, 2014). Ön kanadın ilk damarında yarıdan itibaren uca kadar dört, ikinci damarda ise on beş seta bulunur (Mound ve ark., 1976). Anten yedi segmentli, yedinci segment diğer segmentlere göre daha kısa ve birinci, ikinci ve üçüncü anten

segmentlerinin tabanı diğer anten segmentlerinden daha açık renklidir (Blunck, 1958; Stannard, 1968; Anonymous, 2014n). *Thrips tabaci* polifag bir zararlı olup biber ve en çok soğan üzerinde beslendiği tespit edilmiştir (Anonymous, 2014n; Kaplan ve ark. 2016; Kaplan ve Bayhan, 2018; Can ve Ulusoy, 2022; Younus ve ark., 2023).

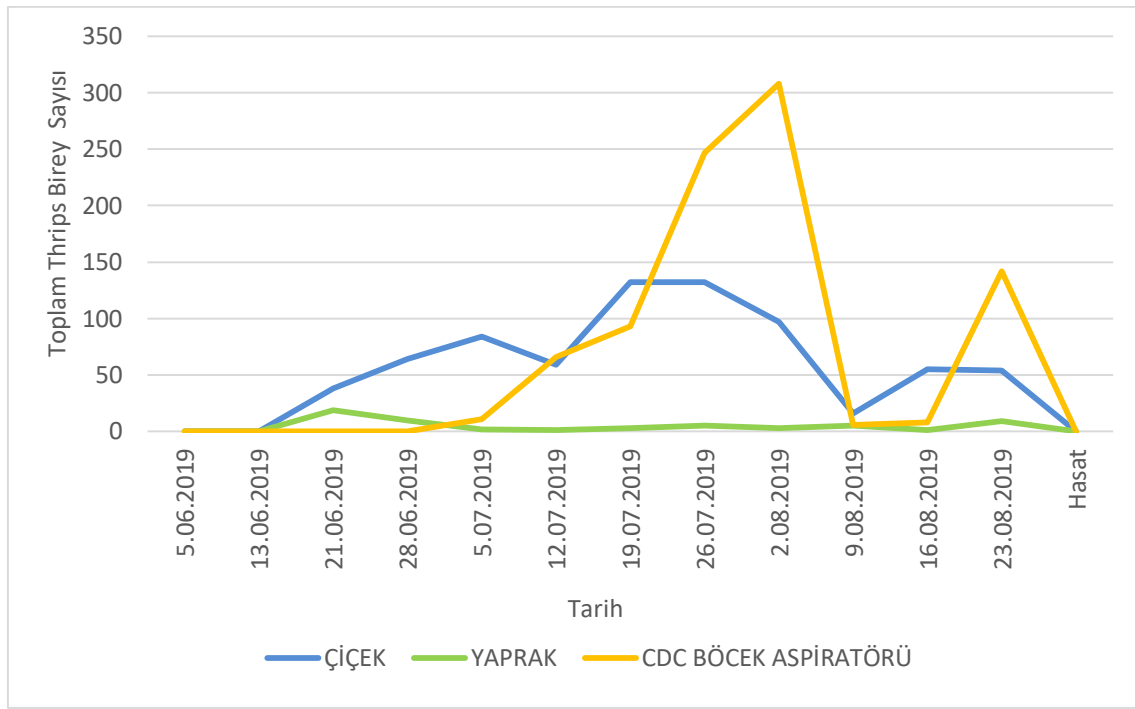
Aeolothrips intermedius (Bagnall, 1934)

Şekil 8. *Aeolothrips intermedius* (Bagnall, 1934) ergini (♀)
Figure 8. *Aeolothrips intermedius* (Bagnall, 1934) adult (♀)

Aeolothrips intermedius erkek ve dişi bireylerin vücut ve kanatları kahverengi ve ön kanatları üzerinde iki sıra bant bulunur. Erkek bireyler dişi bireylerden daha küçüktür. Anten kahverengi ve dokuz segmentli, ikinci ve üçüncü anten segmenti ise sarı renktedir. Üçüncü ve dördüncü anten segmentlerinde duyu organları vardır. Beşinci anten segmenti altıdan dokuza kadar olan tüm anten segmentlerinden daha uzundur. Baş ve pronotumda uzun kıllar yoktur (Mound ve ark., 1976; Gruss ve ark., 2019). Fabaceae familyasına bağlı bitkilerin çiçeklerinde daha çok tespit edilmesine rağmen, Solanaceae familyalarındaki bitkilerin çiçeklerinde de bulunmaktadır (Bagnall, 1934; Bournier ve ark., 1978). Ayrıca Rosaceae familyasında da bulunduğu bilinmektedir (Şahin ve Tezcan, 2014; Uzun ve ark., 2015). Avcı olup, daha çok *Thrips* ve *Taeniothrips* cinslerine bağlı türler ile beslenir (Lodos, 1993).

Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü salçalık biber alanından 2019 yılında çiçek, yaprak örnekleri ve cdc böcek aspiratörüyle toplanan thrips türleri ve popülasyon yoğunlukları

Dulkadiroğlu İlçesi Çiğli Köyünde salçalık biber üretim alanında örneklemelere 5 Mayıs 2019 tarihinde başlanılmıştır. Çiğli Köyünden alınan çiçek ve yaprak örneklerinde çiçekte toplam 615 adet, yaprakta ise 59 adet thrips bireyi toplanmıştır (Şekil 1). Çiçeklerde ilk thrips bireyi 21 Haziran tarihinde saptanırken, en yüksek thrips popülasyon yoğunluğu ise 19 Temmuz tarihinde saptanmıştır (Şekil 1). Yaprak örneklerinde ilk ve en yoğun thrips birey sayısı ise 21 Haziran tarihinde kaydedilmiştir. Bu tarihten sonra birey sayıları azalmıştır. CDC Böcek aspiratörü ile alınan örneklerde 2 Ağustos tarihinde en yüksek birey sayısı (308 adet) kaydedilmiştir. Bu örnekleme ile toplamda 903 adet thrips bireyi toplanmıştır (Şekil 1).

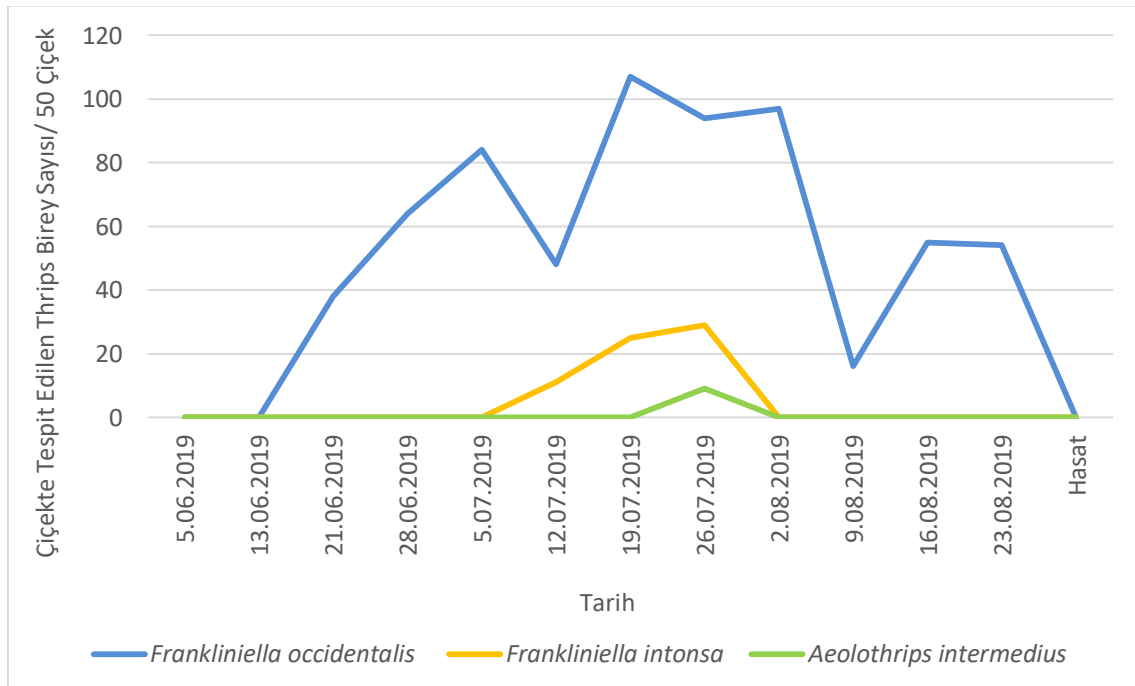


Şekil 1. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü salçalık biber üretim alanında 2019 yılında çiçek, yaprak örneklemeleri ve CDC böcek aspiratörü ile toplanan thrips bireylerinin popülasyon yoğunlukları

Figure 1. Population densities of thrips individuals collected with flower and leaf samples and CDC insect aspirator in 2019 in the paste pepper production area of Çiğli Village of Kahramanmaraş Province

Çiçek örneklemeleriyle üç thrips türü tespit edilmiştir. Bu türler: *Frankliniella occidentalis* (657 adet), *Frankliniella intonsa* (65 adet) ve *Aelothrips intermedius* (9 adet)'dur. Karsavuran ve Gücük (2007), Manisa da domatesi ekiliş alanlarında yaptıkları çalışmada en yaygın görülen türlerin *F. occidentalis* ve *T. tabaci* olduğunu bildirmişlerdir. Bu türlerin ise popülasyon yoğunluklarının vejetasyon döneminde *T. tabaci*'nin *F. occidentalis*'e oranla daha yüksek bir popülasyon

sağladığını belirtirken *F. occidentalis*'in domates fidelerin çiçeklenmeye başlamasıyla birlikte yapraklarda hemen hemen hiç görülmediği ama uzun sürede domates çiçeklerinde popülasyon sağlamadığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada yapılan örneklemelerde toplanan thrips türlerinin çoğunun *F. occidentalis* türüne ait olduğu ve bu türün en yüksek popülasyon yoğunluğuna 19 Temmuz tarihinde ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 2).



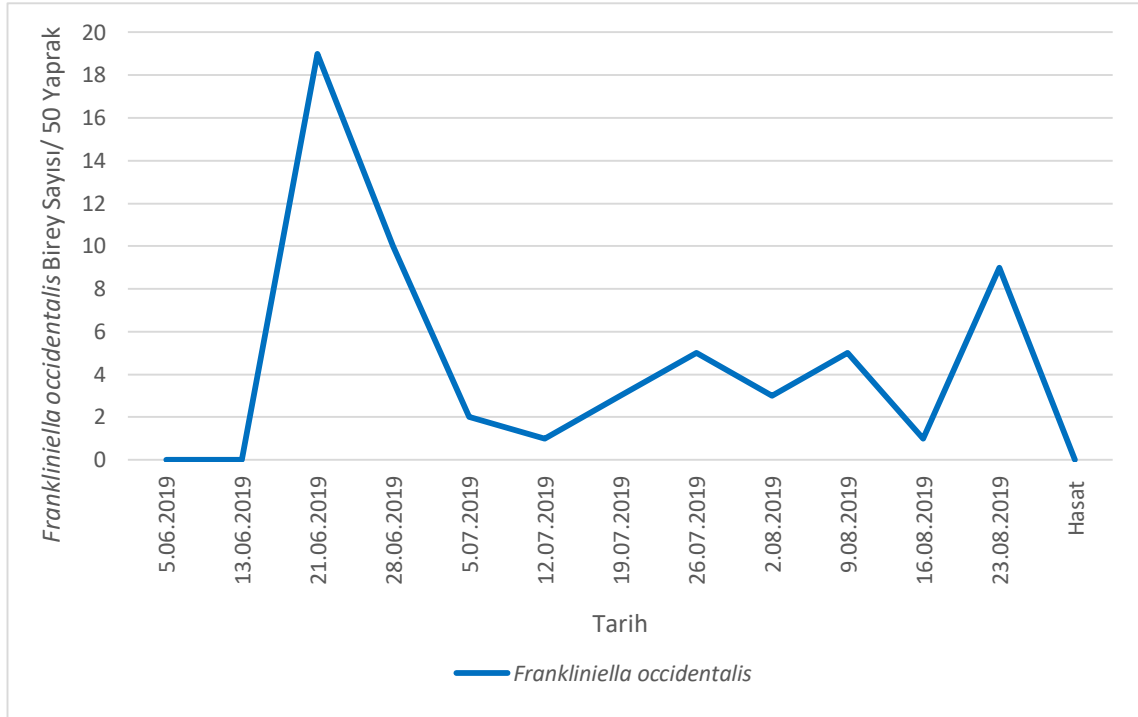
Şekil 2. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü salçalık biber üretim alanlarında 2019 yılında toplanan biber çiçeklerindeki 3 thrips

türünün popülasyon yoğunlukları (adet/50 çiçek)

Figure 2. Population densities of three thrips species in pepper flowers collected in 2019 in the paste pepper production areas of Kahramanmaraş Province Çiğli Village (pieces/50 flowers)

Yaprak örneklemeleriyle bir thrips türü tespit edilmiştir. Bu tür; *Frankliniella occidentalis* (59 adet)'dir. Canbay ve ark. (2011), Erzincan ilinde domates ve hıyar bitkilerinde 12 farklı serada yaprak örneklemeleri ile zararlı böcek türlerini belirleyerek *F. occidentalis* ve *T. tabaci*'nin popülasyon yoğunluklarını tespit etmişlerdir.

Yaptığımız örneklemelerde *F. occidentalis*'in en yüksek popülasyon yoğunluğuna 21 Haziran tarihinde ulaştığını, ayrıca bu tarihten sonra yapılan örneklemelerde *F. occidentalis*'in popülasyon yoğunluğunun belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 3).

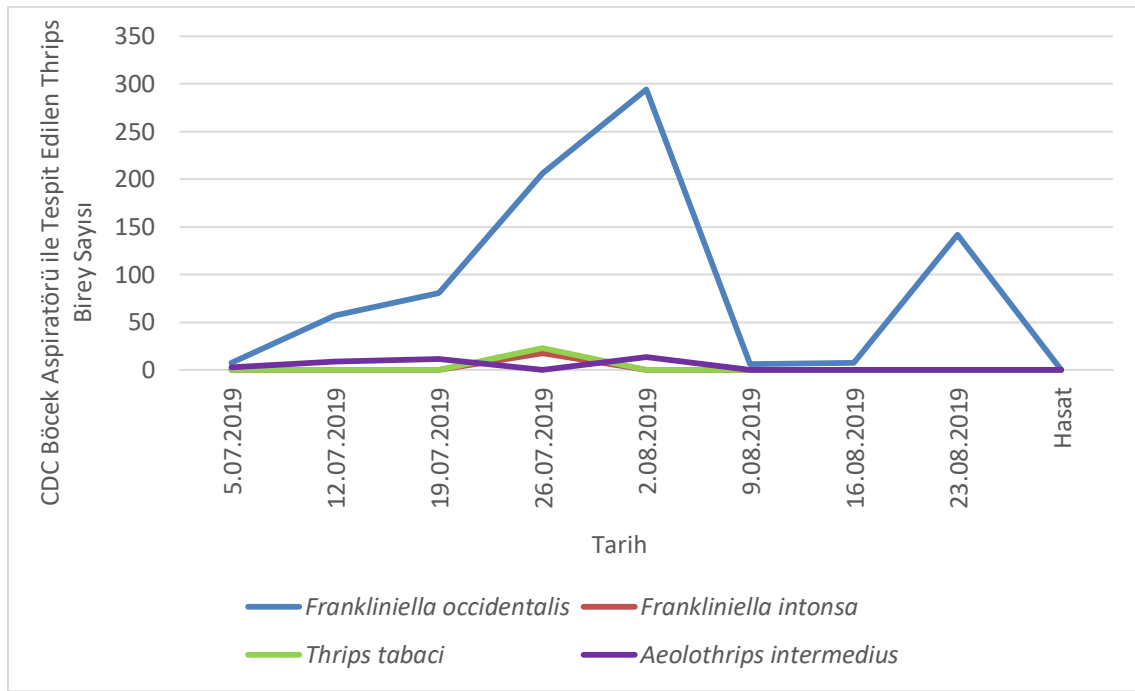


Şekil 3. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü salçalık biber çeşidi alanlarından 2019 yılında toplanan biber yapraklarındaki *Frankliniella occidentalis*'in popülasyon yoğunluğu (adet/50 yaprak)

Figure 3. Population density of *Frankliniella occidentalis* in pepper leaves collected from Çiğli Village, Kahramanmaraş Province paste pepper variety areas in 2019 (pieces/50 leaves)

CDC böcek aspiratörüyle dört thrips türü tespit edilmiştir. Bu türler: *Frankliniella occidentalis* (722 adet), *Frankliniella intonsa* (18 adet), *Thrips tabaci* (23 adet), *Aeolothrips intermedius* (38 adet)'dur. Yapılan çalışmalarda Can ve Ulusoy (2022), Adana ili açık alan biber yetiştiriciliğinde sorun olan zararlı böcek türlerini belirledikleri çalışmalarında *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895)'in biber alanlarında en yaygın ve popülasyonu en yoğun türlerden biri olduğunu bildirmişlerdir. Younus ve ark. (2023)'nin yaptığı çalışmada ise, Tokat ili biber alanlarında görülen thrips türleri olarak *Frankliniella occidentalis* (Pergande, 1895), *Thrips tabaci* (Lindeman, 1889), *T. meridionalis* (Priesner 1926), *Chirothrips manicatus* (Haliday, 1836),

Aeolothrips intermedius (Bagnall, 1934), *A. fasciatus* (Linnaeus 1758) ve *Haplothrips aculeatus* (Fabricius, 1803) türlerini tespit ederken, en yüksek thrips popülasyonu olan türün *F. occidentalis* (Pergande, 1895) olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmada da yapılan örneklemelerde toplanan thrips türlerinin çoğunun *F. occidentalis* türüne ait olduğu ve bu türün en yüksek popülasyon yoğunluğuna 2 Ağustos tarihinde ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 4). Ayrıca önceki yapılan çalışmalara bakıldığında *Frankliniella intonsa* (Trybom, 1895)'nin biber alanlarında bulunduğu bu çalışma da belirlenmiştir.

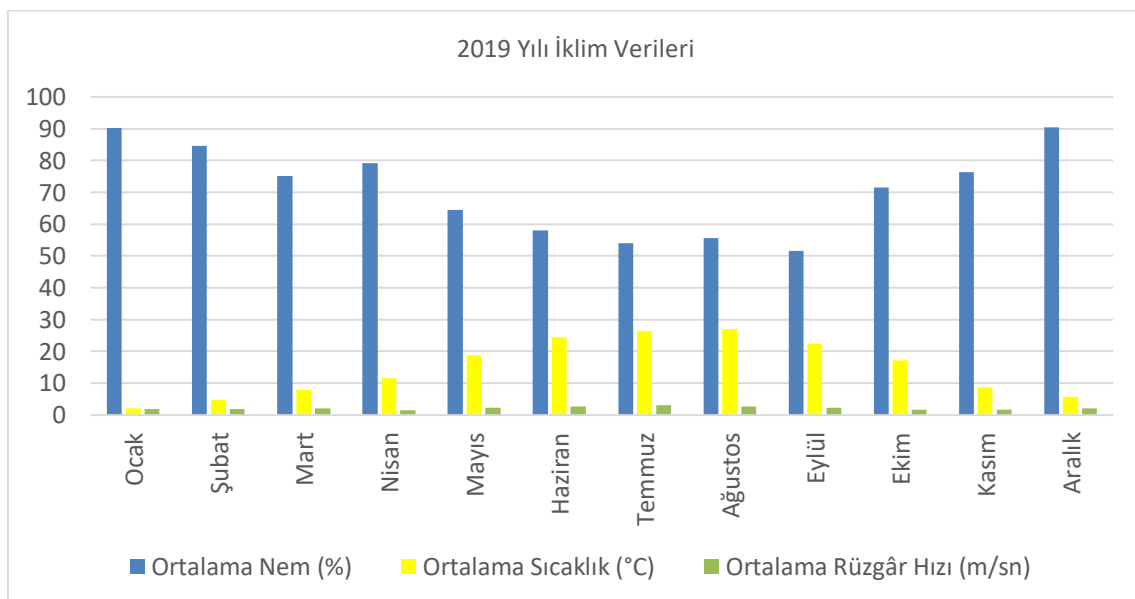


Şekil 4. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü şalçalık biber üretim alanlarında 2019 yılında CDC böcek aspiratörü ile toplanan thrips türlerinin popülasyon yoğunlukları (adet/CDC aspiratörü)

Figure 4. Population densities of thrips species collected with the CDC insect aspirator in 2019 in the paste pepper production areas of Çiğli Village of Kahramanmaraş Province (pieces/CDC aspirator)

Çalışmada nem, sıcaklık ve rüzgâr hızının thrips türlerinin popülasyon yoğunlukları üzerine etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 5). Kılıç (2003), İzmir İli örtüaltı hıyar yetiştiriciliğinde zararlı thrips türlerini belirlediği çalışmada çiçek ve yaprak örneklemelerinde thrips popülasyonunun maximum olduğu haziran ayında ortalama sıcaklık ve nemin sırasıyla 24.4 °C, % 45.1 olduğunu belirlemiştir. Kaplan ve Bayhan (2018), Mardin İli bağ alanlarındaki Thysanoptera türleri ve popülasyonları üzerine yaptıkları çalışmada

optimum sıcaklığın 28-33 °C, optimum nemin ise % 20-39 olduğunu ve thrips popülasyon yoğunluğunun en yüksek seviyeye ulaştığını belirtmişlerdir. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü şalçalık biber alanlarındaki thrips türlerinin popülasyon yoğunluğunun en yüksek olduğu aylık ortalama sıcaklığın 24-27 °C, ortalama nemin % 54-58 ve rüzgâr hızının 2-3 m/sn olduğu tespit edilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Kahramanmaraş İli Çiğli Köyü 2019 yılı aylık ortalama nem (%), sıcaklık (°C) ve rüzgâr hızı (m/sn) verileri

Figure 5. Kahramanmaraş Province Çiğli Village 2019 monthly average humidity (%), temperature (°C) and wind speed (m/sn) data

Sonuçlar

Kahramanmaraş'ın Dulkadiroğlu İlçesindeki salçalık biber yetiştiriciliği yapılan alanlarda Thripidae familyasına bağlı üç tür, Aeolothripidae familyasına bağlı bir tür olmak üzere toplam dört tür tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda çiçek, yaprak örneklemeleriyle ve CDC böcek aspiratörü ile yapılan örneklemelerde en yaygın ve birey sayısının en yüksek olduğu türün *F. occidentalis* olduğu belirlenirken, avcı thrips, *A. intermedius*'un popülasyon yoğunluğunun daha düşük olduğu tespit edilmiştir. CDC böcek aspiratörü ile yapılan örneklemelerde tür sayısı ve bulunan thrips türlerinin popülasyon yoğunluklarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Kahramanmaraş İli Dulkadiroğlu İlçesi salçalık biber çeşidinde *F. occidentalis*'in ekonomik kayıplara neden olduğu tespit edilmiştir.

Teşekkür

Bu çalışma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "2018/7-6 YLS" kodlu proje ile desteklenmiştir. Thrips bireylerinin teşhislerini yapan Sayın Prof. Dr. Ekrem ATAKAN (Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü)'a teşekkür ederiz. Bu çalışma Alper KOZANOĞLU'nun yüksek lisans tezinin bir kısmını kapsamaktadır.

Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

Kaynaklar

- Akbay, C., Boz, İ., Tiryaki, G. Y., Candemir, S., & Arpacı, B. B. (2012). Kahramanmaraş ve Gaziantep illerinde kırmızı biberin üretim yapısı ve kurutma yöntemleri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 15(2), 1-10.
- Alston, D. (2011). Utah Eyalet Üniversitesi, Bugwood.org Creative Commons Attribution-Noncommercial 3.0 Lisansı altında lisanslanmıştır. <https://www.forestryimages.org/browse/detail.c>

- fm?imgnum=5445034.
- Anonim, (2008). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığının 2015 yılında yayınladığı "Zirai Mücadele Teknik Talimatları" Kitabı, 3, 281-286.
- Anonim, (2015). Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığının 2015 yılında yayınladığı "Zirai Mücadele Teknik Talimatları" Kitabı, 4, 369-372.
- Anonim, (2018). <http://www.tohumcu.org/UserFiles/teknik%20bilgi/biber.pdf>. (Erişim Tarihi: 30.10.2018).
- Anonim, (2019). <http://En.Wikipeda.Org/Wiki/Frankliniellaoccidentalis>. (Erişim Tarihi: 15.03.2019).
- Anonymous, (2010). Koruma kontrol genel müdürlüğü, gerbera'da çiçek thripsi *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) zirai mücadele teknik talimatı. http://www.kkgm.gov.tr/birim/bitkikoruma/teknik_talimat/sus_bitkileri_hast_zarar/gerbereda_cicek_thripsi.pdf, (Erişim Tarihi: Ocak, 2010).
- Anonymous, (2014). <http://www.Padil.Gov.Au/Pests-And-Diseases/Pest/Main/136420> (Erişim Tarihi: 13.12.2020).
- Anonymous, (2014n). http://keys.lucidcentral.org/keys/v3/thrips_of_california/identify-thrips/key/california-thysanoptera-2012/Media/Html/browse-species/Thrips_tabaci.htm (Erişim tarihi: 24 Ocak 2014).
- Atakan, E., & Tunç, İ. (2004). Adana ilinde yoncada Thysanoptera faunası ve bazı önemli türlerin ve predatör böceklerin popülasyon değişimleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 28(3), 181-192.
- Atakan, E. (2008b). Adana ve Mersin illerinde çilekte thrips (Thysanoptera) türleri ve zararı üzerine ön araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 32(2), 91-101.
- Atakan, E. (2009). Adana ve çevresinde yenidoğru bahçelerinde bulunan Thysanoptera (Thrips) türleriyle avcı böceklerin popülasyon değişimleri ve thrips zararı üzerine araştırmalar, *Alatarım*, 8(2), 1-7.
- Atakan, E. (2011). Adana kentinde parklardaki bazı süs bitkilerinde bulunan Thysanoptera (Thrips) türleri, *Alatarım*, 10(2), 79-84.
- Bagnall, R. S. (1934). A contribution towards a knowledge of the genus *Aeolothrips* (Thysanoptera) with descriptions of new species. *The Entomologist's Monthly Magazine*, 70, 120-127.
- Blunck, H., 1958. Thysanopteren aus der Türkei. *Beitrage zur Entomologie*, 8, 99-111.
- Bournier, A., Lacasa, A., & Pivot, Y. (1978). Biologie d'un thrips predateur *Aeolothrips intermedius* (Thysanoptera: Aeolothripidae). *Entomophaga*, 23(4), 403-410.
- Canbay, A., Bozbek, Ö., Alıcı, H., & Çakırbay, İ. F. (2011). Erzincan ili örtüaltında yetiştirilen domates ve hıyarlarda görülen zararlı türlerin tespiti ve popülasyon gelişimi. *Bitki Koruma Bülteni*, 51(2), 119-146.
- Can, E., & Ulusoy, M. R. (2022). Adana ili açık alan biber yetiştiriciliğinde sorun olan arthropoda şubesine

- bağlı zararlı ve yararlı türlerin saptanması. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 37(1), 79-87. DOI: 10.36846/CJAFS.2022.76
- Childers, C. C., & Achor, D. S. (1995). Thrips feeding and oviposition injuries to economic plants, subsequent damage and host responses to infestation. B. L. Parker et al. (eds.), *Thrips Biology and Management*. Plenum Press, Newyork.
- Childers, C. C., & Beshear, R. J. (1992). Thrips (Thysanoptera) species associated with developing citrus flowers in florida and a key to adult terebrantian females. *Journal of Entomological Science*, 27, 392-412.
- Coll, M., Shakya, S., Shouster, I., Nenner, Y., & Steinberg, S. (2007). Decision-making tools for *Frankliniella occidentalis* management in strawberry: consideration of target markets. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 122, 59-67. DOI: 10.1111/j.1570-7458.2006.00488.x
- Çuhadar, S. (2008). "Maraş Biberi" tescillendi. *Cumhuriyet Tarım Gıda Hayvancılık*, 4(45), 18.
- Deepa, N., Kaur, C., Singh, B., & Kapoor, H. C. (2006). Antioxidant activity in some red sweet pepper cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 572-578. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.03.005>.
- Disko Younus, S., Yanar, D., & Atakan, E. (2023). Thrips (Insecta: Thysanoptera) Species 429 in Pepper Fields in Tokat Province, Türkiye. *Journal of Agricultural Faculty of 430 Gaziosmanpaşa University (JAFAG)*, 40(2), 89-95.
- Doymaz, I., & Pala, M. (2002). Hot-air drying characteristics of red pepper. *Journal of Food Engineering*, 55, 331-335. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00110-3](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00110-3)
- FAO, (2021). Statistical data of FAO. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim Tarihi: 15.08.2023).
- Gruss, I., Twardowski, J. P., & Cierpisz, M. (2019). The effects of locality and host plant on the body size of *Aeolothrips intermedius* (Thysanoptera: Aeolothripidae) in the Southwest of Poland Insects. *Insects*, 10(9), 266. DOI: 10.3390/insects10090266.
- Jeppson, L. R., Keifer, H. H., & Baker, E. W. (1975). *Mites Injurious Economic Plants (pp 614)*. Berkeley: University of California Press.
- Kaplan, M., Bayhan, E., & Atakan, E. (2016). Mardin ili bağ alanlarındaki Thysanoptera türleri, mevsimsel yoğunlukları ve yayılış alanlarının belirlenmesi. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 6(2), 161-168. 441
- Kaplan, M., & Bayhan, E. (2018). Mardin ili bağ alanlarındaki Thysanoptera (thrips) türlerinin popülasyon değişimlerinin belirlenmesi. *Plant Protection Bulletin*, 58(1), 24-31.
- Karsavuran, Y., & Gücük, M. (2007). *Thrips tabaci* Lindeman ve *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae)'in Manisa ilinde sanayi domatesi alanlarında popülasyon değişimlerinin belirlenmesi üzerinde araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 44(2), 33-48.
- Kılıç, T. (2003). İzmir ilinde Örtüaltı Hıyar Yetiştiriciliğinde Thrips Türlerinin (Thysanoptera) Belirlenmesi, Yayılış Ve Bulunuş Oranı Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bitki Koruma Anabilim Dalı (Yüksek lisans tezi, basılmamış)*.
- Kılıç, T., & Yoldaş, Z. (2004). İzmir ilinde örtüaltı hıyar yetiştiriciliğinde thrips türlerinin (Thysanoptera) belirlenmesi, yayılış ve bulunuş oranı üzerinde araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 28(2), 151-160.
- Klein, M., & Ben Dov, Y. (1991). The western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, a potential pest in Israel. *Hassadesh*, 72(2), 244-245.
- Lodos, N. (1984). Türkiye Entomoloji III. (Genel, uygulamalı ve faunistik), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Basımevi, Bornova, İzmir, 150 s.
- Lodos, N. (1993). Türkiye Entomolojisi III. (Genel, uygulamalı ve faunistik), Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 456, 167 s.
- Loomans, A. J. M., Van Lenteren, J. C., Tommasini, M. G., Maini, S., & Riudavets, J. (1995). Biological control of thrips pests, Wageningen Agricultural University Papers, 201 pp.
- Mound, L. A., Morison, G. D., Pitkin, B. R., & Palmer, J. M. (1976). Thysanoptera, Handbooks For The Identification of British Insects. The Royal Entomological Society of London, 1(11), 79 pp.
- Mound, L. A. & Kibby, G. (1998). Thysanoptera: An Identification Guide (2nd Edition). CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK, pp.70.
- Nas, S., Atakan, E., & Elekçioğlu, N. (2007). Doğu Akdeniz Bölgesi turuncgil alanlarında bulunan Thysanoptera türleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 31(4), 307-316.
- Öztürk, N., & Atakan, E. (2008). Mersin ve Adana İli kayısı bahçelerinde bulunan Thrips (Thysanoptera) türleri üzerinde araştırmalar. *Alatarım*, 7(2), 14-20.
- Özsemerci, F., Akşit, T., & Tunç, İ. (2006). Manisa ili bağ alanlarında saptanan thrips türleri ve önemli türlerin ilçeler göre dağılımı. *Bitki Koruma Bülteni*, 46(1-4), 51-63.
- Paksoy, M., & Uslu, Ö. S. (2006). The marketing and problems of red pepper in Turkey. VI. *Symposium of Vegetable Cultivation*, 19-22 September 2006, Kahramanmaraş, Türkiye.
- Reed, J. T., & Reinecke, J. (1990). The western flower thrips on cotton: plant damage and mite predation-preliminary observations. *Proceedings of the Beltwide Cotton Production-Mechanization Conference*, (pp 111-115), 9-14 January, Las Vegas, Nevada.
- Sakura, T., Inoue, T., & Tsuda, S. (2004). Distinct efficiencies of impatiens necrotic spot virus transmission by five thrips vector species (Thysanoptera: Thripidae) of tospoviruses in japan. *Applied Entomology and Zoology*, (39)1, 71-78. DOI: <https://doi.org/10.1303/aez.2004.71>.
- Shipp, J. L., Binns, M. R., Hao, X., & Wang, K. (1998). Economic injury levels for western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) on greenhouse sweet pepper. *Journal of Economic Entomology*, 91(3), 671-677. DOI: 10.1093/jee/91.3.671.
- Stannard, L. J. (1968). The Thrips or Thysanoptera of Illinois. *Illinois Natural History Survey Bulletin*, 29, 371-373. <http://hdl.handle.net/2142/44080>.

- Şahin, B., & Tezcan, S. (2014). Investigations on thrips (Thysanoptera) species occurring in flowers of cherry trees in Kemalpaşa (izmir) province of Western Turkey. *Linzer Biologische Beiträge*, 4(1), 889-893.
- Tommasini, M. G., & Maini, S. (1995). *Frankliniella occidentalis* and other thrips harmful to vegetable and ornamental crops in Europe, 3-42. In: *Biological Control of Thrips*, (eds.: A. J. M. Loomans, J. C. Van Lenteren, M. G. Tommasini & J. Riudavets), Wageningen Agricultural University Papers, 95-1.
- Tunç, İ., Bahşi, Ş. Ü., & Sümbül, H. (2012a). Thysanoptera fauna of the lakes region, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 36(4), 412-429.
- TÜİK, (2022). Türkiye İstatistik Kurumu. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr> (Erişim Tarihi: 15.08.2023).
- Uzun, A., Tezcan, S., & Demirözer, O. (2015). Thrips (Thysanoptera) species occurring in cherry orchards in Isparta province of Western Turkey. *Linzer Biologische Beiträge*, 47(1), 963-968.



Optimization of process parameters of manna bar, a kind of nougat, production

Bir tür nuga olan manna barın üretim parametrelerinin optimizasyonu

Ribin Anwer MAHMOOD¹ , Hüseyin BOZKURT^{2*}

^{1,2}Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, University of Gaziantep, 27310 Gaziantep, TÜRKİYE.

¹<https://orcid.org/0000-0002-6849-5578>; ²<https://orcid.org/0000-0003-4676-6354>

To cite this article:

Mahmood, R. & Bozkurt, H. (2024). Optimization of process parameters of manna bar, a kind of nougat, production. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 94-107
DOI: 10.29050/harranziraat.1301682

*Address for Correspondence:

Hüseyin BOZKURT

e-mail:

hbozkurt@gantep.edu.tr

Received Date:

06.07.2023

Accepted Date:

01.03.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ABSTRACT

Manna bar, a kind of nougat, is a typical Iraqi-Iranian confectionary that is made by manna, glucose syrup, table sugar, egg white, cardamom and nuts (pistachio, walnuts, or almond). Manna bar is a similar confectionary with French nougat, Italian torrone, and Spanish turrón, but produced from different raw materials and different process. The aim of this research was to determine influence of cooking temperature, cooking time and mixing time on the quality of manna bars during the production. The analyses made in this study were moisture content, pH value, color and textural properties. It was found that increasing cooking temperature from 100°C to 120°C, cooking time from 5 min. to 15 min., and mixing time from 10 min to 30 min. decreased moisture content from 15.58 to 8.50 %, but increased ($p<0.05$) hardness from 131.56 to 856.16 g. Browning index and pH value decreased ($p<0.05$) by increasing mixing time. Response surface analysis was carried out to optimize the production of manna bar. It's results showed that cooking at 120°C for 10.10 min and mixing of 21.26 min was the best condition as desirability = 0.682. This study showed that high temperature at 120°C and long cooking for 15 min., and mixing for 30 min. improved the physical and chemical properties of manna bars.

Key Words: Manna, Manna Bar, Response Surface Analysis, Optimization, Cooking And Mixing Times

ÖZ

Bir tür nuga olan manna bar, manna, glikoz şurubu, şeker, yumurta akı, kakule ve fıstık, ceviz veya badem ile yapılan tipik bir Irak-İran şekerlemesidir. Manna bar, Fransız nugası, İtalyan torrone ve İspanyol turrón ile benzer bir şekerlemedir, ancak farklı hammaddelerden ve farklı işlemlerden üretilir. Bu araştırmanın amacı, üretim sırasında manna barlarının kalitesine pişirme sıcaklığı, pişirme süresi ve karıştırma süresinin etkisini belirlemektir. Bu çalışmada yapılan analizler nem içeriği, pH değeri, renk ve dokusal özelliklerdir. Pişirme sıcaklığının 100 °C den 120 °C ye, pişirme süresinin 5 dakikadan 15 dakikaya ve karıştırma süresinin 10 dakikadan 30 dakikaya artmasının nem içeriğini % 15,58'den % 8,50'ye düşürdüğü, sertliği ise ($p<0,05$) 131,56 g'dan 856,16 g'a yükselttiği bulundu. Karıştırma süresi arttıkça esmerleşme indeksi ve pH değeri azalmıştır ($p<0.05$). Manna bar üretimini optimize etmek için tepki yüzeyi analizi yapıldı. Sonuçlar, 120°C'de 10.10 dakika pişirmenin ve 21.26 dakika karıştırmanın arzu edirlilik = 0.682 olarak en iyi koşul olduğunu göstermiştir. Bu çalışma, yüksek sıcaklık (120°C) ve uzun pişirme (15 dakika) ve karıştırmanın (30 dakika) manna barlarının fiziksel ve kimyasal özelliklerini iyileştirdiğini gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Manna, Manna Bar, Tepki Yüzeyi Analizi, Optimizasyon, Pişirme ve Karıştırma Süreleri

Introduction

The history of manna goes back to three thousand years ago. In the earliest time, manna has been known in Asia Minor (Harrison, 1950). Manna is mainly obtained in Penjween-Sulaymaniyah in Iraq; it is collected between June and July (Bodenheimer, 1947). Manna is a sugary compound which consists of white to brown small tears and soluble in water (Lanza, 2005). It chiefly appears on the leaves of gallnut and oak trees which mostly grown naturally in the mountains. Manna is a crystalline covered with a white crust, that is an exudate of tree probably wounds tree by insect. Manna is used for production of local sweets, delicious cakes mixed with nuts, bread and a medicine for treatment of minor disease since Noah flood in this region (Leibowitz, 1944; Sabry & Atallah, 1961; Erkan et al., 2014; Al Safi et al., 2022). Also, special confectionary produced by manna sold in Baghdad under the name of “man es-simma” means the manna from heaven (Bodenheimer, 1947).

Manna collected from Iran (Gaz of Khunsar) has a pH value of 5.5, rotates polarized light to the right and free of nitrogen, alkaloids, tannin, sulfur, and halogens (Br, Cl, and I) (Aeinechi et al., 1976; Sdiq & Saeed, 2019). It is originally white or cream-colored while it may appear greenish or brownish-yellow in bulk, depending on impurities. It is hydrophilic, very sticky, and soft under normal conditions, breakable when dry, and readily soluble in alcohol and water. Nicknejad (1976) analyzed gaz- alafi, it is (a type of manna), gathered from desert trees, and reported about a 10% fructose and 40% sucrose content. In Iran the word “Angabin” is used for manna, and it is used in the markets for traditional medicines. In Iranian medicine, different kinds of manna have been used as expectorant, antipyretics, laxatives and to treat hyperbilirubinemia (Ghasemi et al., 2003; Azadbakht & Alinejad, 2005; Al Safi et al., 2022).

Manna bar is a typical Iraqi-Iranian confectionary that is made up of manna, glucose syrup, sugar, egg white, cardamom and nuts (pistachio, walnuts, or almond). Manna bar

produced in Al-Sulaymaniyah, Iraq, is very famous and this city has lots of famous firms. It is still produced in a traditional way. In firms, traditional manna bar production starts by dissolving of manna in water, and boiling until becoming a sauce or molasses. Then, it cooks with glucose syrup, after a certain time egg white is added during the mixing and then cardamom with or without pistachios/walnuts is added. After that, the mixture is put in a plate and left about 10 hours. Manna bar is ready for cutting. Finally, the produced Manna bar is packaged and is ready to sell.

Manna bar resembles to lots of product, such as Italian torrone, French or Spanish nougat, and Spanish turrón, which are generally manufactured during Christmas time. They are produced with honey, inverted sugar, sugar, egg albumin, and types of nuts such as pistachio or hazelnut, sometimes chocolate. Torrone is manufactured in some regions of Italy such as Lombardy, Abruzzo, Calabria, and Campania by traditional way (Speziale et al., 2010a). Manna bar has different sensory and textural attribute than those of products. Main quality attributes of manna bar its texture and flavor evaluated by the consumer (Hojjati et al., 2015a, b). Quality characteristics of manna bar are quite due to the different producer use different cooking time and temperature, mixing time and quantity of foam added, owing to the experience of masters.

In the literature, there is a lack of information about the process parameters on the quality during the production of manna bar. Process optimization is also needed for standard manna bar production. Therefore, the purpose of this study was to optimize the process parameters of manna bar during the production and to discover the effects of cooking temperature and cooking and mixing time on the physical and chemical properties of manna bars.

Materials and Methods

Materials

Glucose syrup, egg white, and cardamom were obtained from local market in Gaziantep, Türkiye. Manna was obtained from a grocery in Al-Sulaymaniyah, Iraq. Hand mixer (King, Model Deluxe, Türkiye) was used to prepare foam from egg white.

Purification of manna

Manna was taken from a grocery, which could have leaves and dust. For that reason, manna was soaked in hot water and stirred until completely dissolved. Then it was held for 36 hours without shaking in order to separate leaves and mud. The mud (precipitated at the bottom), and leaves (at the top) were removed by decantation and filtration, then clear syrup was obtained. After that, it was boiled till becomes a sauce or molasses (Figure 1).

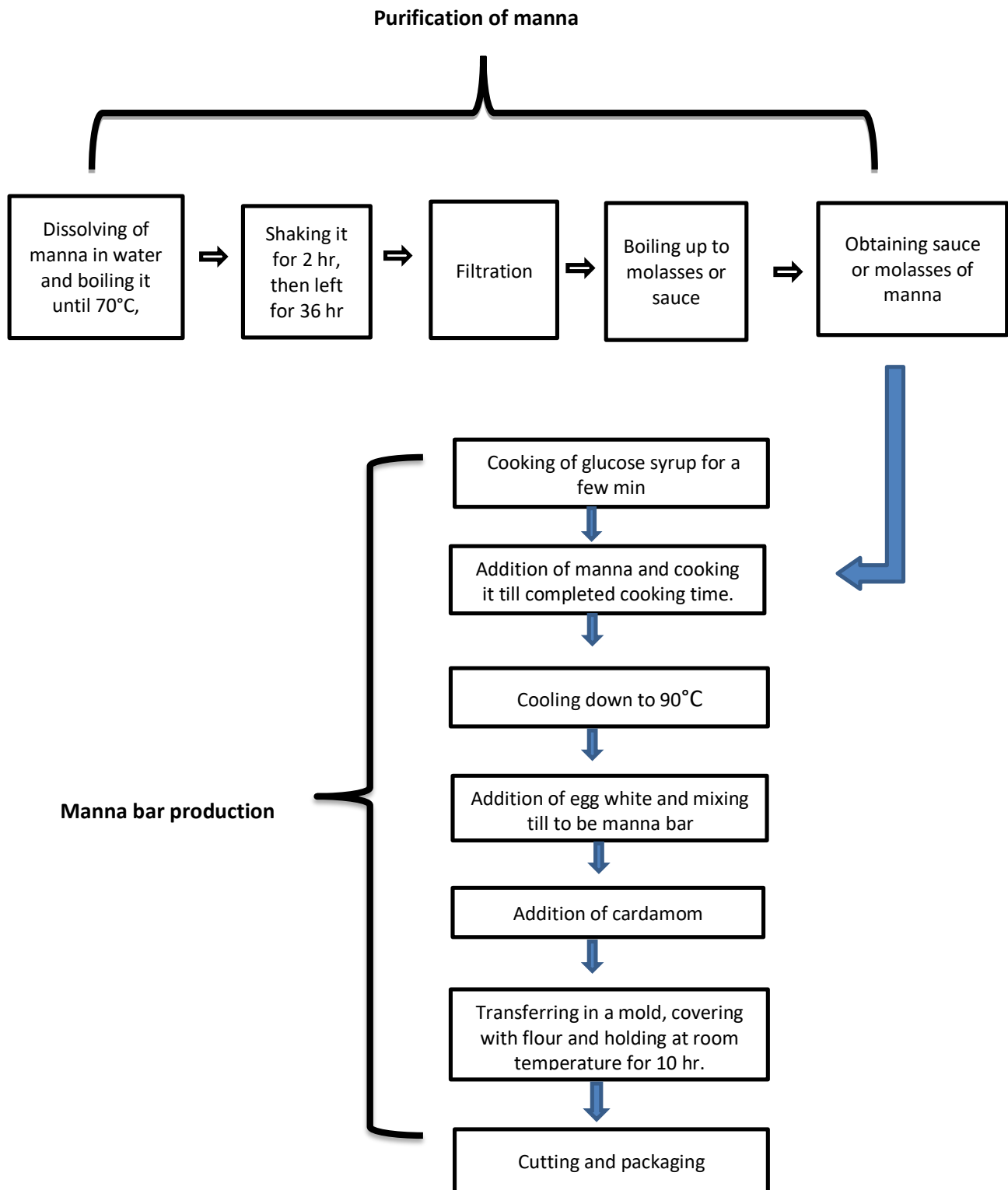


Figure 1. Flow diagram of manna bar manufacture process

Manna bar production

Glucose syrup was put into container and started to cook after that the clarified molasses was added. This mixture was cooked in hot plate (magnetics stirrer-heater; Isolab; Germany) according to experimental design given in Table 1. After cooking, it was cooled down for 5

minutes, and then foam was added into the mixture, which was prepared from egg white by shaking with at speed 2 hand mixer (Arçelik, Türkiye). After that cardamom was added to the mixture with mixing until obtaining homogenous mixture. At the end, it was transferred to a mold and covered by flour (Hojjati et al., 2015b).

Table 1. Process parameters used in manna bar production

Cooking temperature (°C)	Cooking time (min)	Mixing time (min)	Recipe for each sample it was consisted (%)
100	5	10, 20, and 30	Manna: 26.0 Glucose syrup: 65.0 Egg white: 8.0 Cardamom: 1.0
	10	10, 20, and 30	
	15	10, 20, and 30	
110	5	10, 20, and 30	
	10	10, 20, and 30	
	15	10, 20, and 30	
120	5	10, 20, and 30	
	10	10, 20, and 30	
	15	10, 20, and 30	

Experimental design

Fifty-four samples (two batches; each batch had 27 samples, so each recipe was made as 6 times) of manna bar were produced at different cooking temperature (100, 110 and 120°C), cooking time (5, 10 and 15 min), and mixing time (10, 20, and 30 min), but at constant recipe 26% manna, 65% glucose syrup, 8% egg white and 1% cardamom. The process condition and recipe are given in Table 1 as wet base.

Sampling and analysis

For all analysis, duplicate samples were taken. Molds were used for texture profile analysis (TPA analysis). The manna bar was put into molds, after producing; the dimensions of molds were 4×3×2 cm³ (Hojjati et al., 2015b).

Determination of moisture content of manna bar

About 2 g of homogenized sample was taken for moisture content analysis. Moisture content was determined by use of oven method at 105°C until constant weight was reached (AOAC, 1990).

Determination of pH value of manna bar

The measurement of pH value was carried out on a 10 g of homogenized sample dissolved in 90 mL of distilled water (Hojjati et al., 2015b). The pH value of sample was determined by use of HANNA instruments Model 211 pH meter (Portugal).

Determination of color

Color measurements (L*, a*, b*, and YI values) were made using a Hunter Lab Color Flex (A60-1010-615 Model Colorimeter, Hunter Lab, Reston, VA). The instrument was standardized each time with a white and black ceramic plate

($L_0 = 93.01$, $a_0 = 11.11$, and $b_0 = 1.30$). L^* is the lightness coordinate. a^* is the red/green coordinate, with $+a^*$ indicating red, and $-a^*$ indicating green. b^* is the yellow/blue coordinate, with $+b^*$ indicating yellow, and $-b^*$ indicating blue (Bozkurt & Bayram, 2006). Browning index [BI] was calculated using Hunter L^* , a^* , and b^* values as follows:

$$BI = ([100(x - 0.31)]) / 0.17$$

Where

$$x = ((a^* + 1.75L^*) / ((5.645L^* + a^* - 3.012b^*)))$$

Determination of texture attributes of manna bar

In this test, two compressions were made to find an instrumental texture profile analysis (TPA) (Texture Expert Exceed Version 2V3 (Stable Micro Systems, 1998) as described by Bozkurt and Bayram (2006), using a TA. TX2 Texture Analyzer (Texture Technologies Corp., Scarsdale, NY/ stable Microsystems, Godalming, UK). All instrumental texture analyses were conducted at room temperature $24 \pm 2^\circ\text{C}$ equipped with a 50-kg load cell capacity. Molds were used to determine texture attributes of manna bars. Hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, and chewiness values were

obtained.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the SPSS 19.0 (USA) software for Windows. The one-way analysis of variance, (ANOVA) was performed to determine significant differences at $\alpha = 0.05$ level. Duncan Post Hoc test was also carried out to determine homogenous group in the changes of moisture content, pH, color, and textural analysis. Optimization was done by using Response Surface Analysis (DesingExpert, version 12, Trial) as minimizing L^* , a^* , BI, adhesiveness, and springiness. Moreover, for optimization hardness and chewiness values were taken as 562 g and 129 g, respectively (this value was the average of 6 commercial manna bars; the data obtained from Mahmood, 2017).

Results and Discussion

Moisture Content

The moisture content of manna bar was followed at 100, 110 and 120°C for different cooking time (5, 10, and 15) and mixing time (10, 20, and 30 min). Their results are given in Table 2.

Table 2. Changes in moisture content and pH in manna bar at 100, 110 and 120°C for different cooking and mixing time.

Temperature (°C)	Cooking time (min)	Mixing time (min)	Moisture content (%)	pH
100	5	10	15.58 ±0.03 ^a	5.84 ±0.09 ^a
		20	15.45 ±0.15 ^a	5.84 ±0.08 ^a
		30	15.34 ±0.42 ^a	5.84 ±0.08 ^a
	10	10	15.26 ±0.11 ^A	5.59 ±0.06 ^A
		20	14.96 ±0.10 ^A	6.24 ±0.00 ^B
		30	13.25 ±0.12 ^B	6.33 ±0.05 ^B
	15	10	13.89 ±0.23 ^X	5.92 ±0.08 ^X
		20	13.56 ±0.16 ^{XY}	6.17 ±0.03 ^Y
		30	13.11 ±0.91 ^Y	6.43 ±0.06 ^Z
110	5	10	13.42 ±0.32 ^a	5.65 ±0.06 ^a
		20	13.07 ±0.53 ^a	6.20 ±0.07 ^b
		30	12.46 ±0.42 ^a	6.32 ±0.03 ^b
	10	10	13.20 ±0.11 ^A	6.02 ±0.00 ^A
		20	12.60 ±0.09 ^B	6.20 ±0.03 ^B
		30	11.16 ±0.07 ^C	6.40 ±0.03 ^C
	15	10	11.64 ±0.43 ^X	6.15 ±0.05 ^X
		20	11.40 ±0.17 ^X	6.30 ±0.04 ^Y
		30	10.43 ±0.32 ^X	6.51 ±0.03 ^Z
120	5	10	11.06 ±0.18 ^a	6.06 ±0.12 ^a
		20	10.45 ±0.28 ^a	6.16 ±0.05 ^a
		30	9.41 ±0.16 ^b	6.29 ±0.00 ^a
	10	10	10.71 ±0.15 ^A	6.05 ±0.02 ^A
		20	10.04 ±0.09 ^B	6.06 ±0.02 ^A
		30	9.58 ±0.06 ^C	6.30 ±0.00 ^B
	15	10	9.21 ±0.04 ^X	5.91 ±0.07 ^X
		20	8.64 ±0.06 ^Y	6.00 ±0.03 ^{XY}
		30	8.50 ±0.07 ^Y	6.10 ±0.00 ^Y

Small letters (a,b,c) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 5 min of cooking time for each parameter. Capital letters (A,B,C) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 10 min of cooking time for each parameter. Capital letters (X,Y,Z) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 15 min of cooking time for each parameter. $\pm$ Standard deviation obtained from 6 samples.

The moisture content of samples cooked at 100°C for 5 min decreased but not affected significantly ($P > 0.05$) by different mixing time. At 10 min cooking time, the increase of mixing time from 10 to 20 min, moisture content was not significant ($P > 0.05$). However, increasing mixing time to 30 min, moisture content decreased significantly ($P < 0.05$). At 15 min cooking time, the moisture content decreased significantly ($P < 0.05$) by increasing mixing time.

The moisture content of samples cooked at 110°C was not significant ($P > 0.05$) at 5 and 10 min cooking time for different mixing time. However, it decreased and significantly ($P < 0.05$) for different mixing time.

The manna bar cooked at 120°C for 5 min, the moisture content decreased but not significantly ($P > 0.05$) between 10 and 20 min mixing time. However, it was significant ($P < 0.05$) for 30 min

mixing time. The reduction of moisture content was significant ($P \leq 0.05$) at 10 min cooking time by increasing mixing time. At 15 min cooking time, the moisture content of samples decreased significantly ($P < 0.05$) among 10 with 20 and 30 min mixing time, but it was not significant ($P > 0.05$) between 20 and 30 min mixing time.

Generally, high cooking temperature, long cooking time and mixing time affected the moisture content. The reduction of moisture content in manna bar could be due to the evaporation of water by high temperature and long time. Jeffery (2001) mentioned that moisture content ranges from 6% in hard nougats to 15–17% in soft nougats due to long cooking at high temperature.

Hojjati et al. (2015a) studied moisture content of two Spanish turrón cooked for one hour at 50–60°C, then cooked again for one more hour at 70–

80°C. They reported that moisture content was 5.02% and 4.28% for first and second cooking, respectively. Also, the moisture content of two French nougats was found which were cooked for 12 hours at 35°C as 4.83% and 5.90%. These results were consistent with our results.

pH Value

The pH value of manna bar was followed at 100, 110 and 120°C for different cooking times (5, 10, and 15) and mixing times (10, 20, and 30 min). Their results are given in Table 2. Cooking of manna bar at 100°C for 5 min, the pH value was not changed ($P>0.05$) with increasing mixing time. At 10 min cooking time at that temperature, the pH value increased ($P<0.05$) from 10 to 20 min mixing time, but not significantly affected ($P>0.05$) at 30 min mixing time. At 15 min cooking time, the pH value increased ($P<0.05$) by increasing mixing time. At 110°C for different cooking time, the pH value increased ($P<0.05$) by mixing time, except between 20 and 30 min of mixing. At 120°C, increasing mixing time, the pH value was not changed significantly ($P>0.05$) at 5 min cooking time. Moreover, at 10 min of cooking time for 10 and 20 min mixing, the pH value was not affected significantly ($P>0.05$), however, it was significant ($P<0.05$) at 30 min mixing time. At 15 min cooking time, pH value increased ($P<0.05$) from 10 to 20 min mixing time but not significant ($P>0.05$) at 30 min of mixing time. Vázquez et al. (2007) found similar results that pH of turrón decreased during the manufacturing. They noticed that reduction of pH value increased by increasing cooking time.

Generally, the pH value increased ($P<0.05$) during mixing time. The temperature of manna bar decreased during the mixing time, this would lead to decrease the ability of water to ionize, and so the concentration of H^+ or H_3O^+ in manna bars would increase, hence it could decrease the pH.

Color Measurement

The Hunter L^* , a^* , b^* values of the manna bar were measured to determine the change in color

of manna bar after producing at different processes and recipes. L^* (lightness-darkness), a^* (redness-greenness), b^* (yellowness-blueness) have been previously proved valuable in describing deterioration of visual color (Garza et al., 1999; Gunawan & Barringer 2000; Tijskens et al., 2001). Browning index (BI) values were calculated by using of Hunter L^* , a^* , and b^* values (Bayram & Bozkurt, 2007).

The color value of manna bar was followed at 100, 110 and 120°C for different cooking time (5, 10, and 15) and mixing time (10, 20, and 30 min). Their results are given in Table 3. The Hunter L^* value increased significantly ($P<0.05$) at different cooking temperature, cooking time and mixing time, except at 30 min mixing time for 15 min cooking at 120°C. However, the Hunter a^* , b^* , YI and Browning index (BI) values decreased significantly ($P<0.05$) during the processes. Generally, during the mixing, manna bar was going to be white due to that manna bar took air during mixing. Color attributes of that type of confectionary depends on the process conditions and also added egg white. During the process, browning reactions, especially caramelization, leads darker color, however, egg white makes whitening of manna bar.

Vázquez et al. (2007) reported that in manufacturing turrón, the L^* values decreased during heating, implying that samples got darker due to water evaporation. L^* values of turrón found to be 34.94 for 15 min, and 82.74 for 20 min. The addition of ovalbumin L^* increased by increasing heating time. They found also that a^* and b^* values increased by cooking time at same condition. These results were in agreement with the results of this study.

Texture Analysis Profile

Texture profile analysis (hardness, adhesiveness, springiness, cohesiveness, and chewiness values) of manna bar were followed during the production at 100, 110 and 120°C for different cooking times (5, 10, and 15) and mixing times (10, 20, and 30 min), and their results are given in Table 4. Through the parameters

hardness and adhesiveness are more important than those of other parameters, as; hardness is important to give a good texture in the final product. Also, adhesiveness related to the stickiness of manna bar, should not be stick to teeth during eating. Vázquez-Araujo et al. (2006) reported that oversaturation of syrup is mainly occurs in the production of *Xixona turron* which was influence the textural attributes. They also concluded that glass transition temperature is affected from the small variations in moisture content and sugar compositions.

The Hardness and adhesiveness values of the manna bar samples cooked at 100°C, increased significantly ($P < 0.05$) at the different cooking

times and mixing times, except from 10 to 20 min mixing at 10 min cooking which was not significantly affected ($P > 0.05$) in hardness. Hardness and especially adhesiveness values of the product linked to the moisture content. As decreasing of moisture content of the manna bar during the process increased hardness values and decreased adhesiveness value of the product. Vázquez-Araujo et al. (2006) found the similar results. They observed that increase in the mixing (homogenization) time would give harder product, because of the stronger consistency. It was also reported that less mixing leads softer products.

Table 3. Determination color in manna bar at 100, 110 and 120°C for different cooking time and mixing time

Temperature (°C)	Cooking time (min)	Mixing time (min)	CIE L*	CIE a*	CIE b*	CIE YI	BI
100	5	10	67.57 ±0.14 ^a	4.89 ±0.04 ^a	13.58 ±0.06 ^a	39.18 ±0.11 ^a	27.34 ±0.08 ^a
		20	70.04 ±0.00 ^b	3.76 ±0.00 ^b	10.95 ±0.04 ^b	29.09 ±0.07 ^b	20.60 ±0.07 ^b
		30	75.79 ±0.28 ^c	2.96 ±0.00 ^c	9.89 ±0.01 ^c	35.73 ±0.09 ^c	16.54 ±0.09 ^c
	10	10	65.53 ±0.10 ^A	4.88 ±0.01 ^A	13.27 ±0.15 ^A	37.16 ±0.01 ^A	27.69 ±0.31 ^A
		20	74.18 ±0.20 ^B	3.85 ±0.00 ^B	11.14 ±0.05 ^B	28.36 ±0.03 ^B	19.76 ±0.03 ^B
		30	84.42 ±0.60 ^C	2.80 ±0.05 ^C	8.79 ±0.02 ^C	20.32 ±0.01 ^C	13.18 ±0.02 ^C
	15	10	68.47 ±0.09 ^X	4.66 ±0.01 ^X	12.96 ±0.00 ^X	34.83 ±0.01 ^X	25.59 ±0.00 ^X
		20	75.14 ±0.04 ^Y	3.85 ±0.00 ^Y	11.15 ±0.00 ^Y	28.11 ±0.02 ^Y	19.50 ±0.01 ^Y
		30	78.77 ±0.29 ^Z	2.67 ±0.03 ^Z	8.30 ±0.02 ^Z	20.43 ±0.07 ^Z	13.37 ±0.01 ^Z
110	5	10	66.66 ±0.21 ^a	4.71 ±0.00 ^a	13.02 ±0.02 ^a	35.69 ±0.09 ^a	26.53 ±0.11 ^a
		20	75.83 ±0.00 ^b	3.92 ±0.00 ^b	11.72 ±0.04 ^b	29.06 ±0.09 ^b	20.25 ±0.07 ^b
		30	81.90 ±0.02 ^c	2.61 ±0.02 ^c	8.13 ±0.03 ^c	19.37 ±0.04 ^c	12.57 ±0.03 ^c
	10	10	68.88 ±0.10 ^A	4.39 ±0.00 ^A	12.83 ±0.01 ^A	34.06 ±0.06 ^A	24.90 ±0.05 ^A
		20	77.38 ±0.13 ^B	3.05 ±0.00 ^B	9.40 ±0.03 ^B	23.23 ±0.04 ^B	15.56 ±0.02 ^B
		30	79.32 ±0.26 ^C	2.31 ±0.04 ^C	7.44 ±0.03 ^C	18.20 ±0.05 ^C	11.76 ±0.04 ^C
	15	10	74.44 ±0.00 ^X	3.96 ±0.02 ^X	12.49 ±0.03 ^X	13.01 ±0.04 ^X	21.91 ±0.02 ^X
		20	77.66 ±0.02 ^Y	2.83 ±0.02 ^Y	9.32 ±0.01 ^Y	22.8 ±0.01 ^Y	15.18 ±0.00 ^Y
		30	83.17 ±0.25 ^Z	2.20 ±0.02 ^Z	7.76 ±0.02 ^Z	17.99 ±0.00 ^Z	11.50 ±0.01 ^Z
120	5	10	71.13 ±0.04 ^a	2.61 ±0.01 ^a	10.44 ±0.04 ^a	26.51 ±0.08 ^a	18.23 ±0.03 ^a
		20	82.92 ±0.00 ^b	2.26 ±0.00 ^b	9.57 ±0.02 ^b	21.57 ±0.05 ^b	13.99 ±0.04 ^b
		30	84.89 ±0.13 ^c	2.00 ±0.04 ^c	8.62 ±0.03 ^c	19.17 ±0.00 ^c	12.19 ±0.01 ^c
	10	10	76.00 ±0.10 ^A	2.59 ±0.04 ^A	11.65 ±0.02 ^A	27.51 ±0.02 ^A	18.79 ±0.03 ^A
		20	75.60 ±0.05 ^A	2.25 ±0.01 ^B	10.02 ±0.02 ^B	24.08 ±0.01 ^B	16.10 ±0.04 ^B
		30	78.21 ±0.28 ^B	1.93 ±0.00 ^C	8.96 ±0.06 ^C	21.05 ±0.04 ^C	13.70±0.03 ^C
	15	10	75.40 ±0.14 ^X	2.33 ±0.00 ^X	12.84 ±0.09 ^X	29.76 ±0.21 ^X	20.55 ±0.11 ^X
		20	78.14 ±0.25 ^Y	1.97 ±0.05 ^Y	11.45 ±0.04 ^Y	25.94 ±0.03 ^Y	17.36 ±0.04 ^Y
		30	76.92 ±0.10 ^Z	1.74 ±0.00 ^Z	10.72 ±0.02 ^Z	24.59 ±0.04 ^Z	16.35 ±0.03 ^Z

Small letters (a,b,c) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 5 min of cooking time for each parameter. Capital letters (A,B,C) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 10 min of cooking time for each parameter. Capital letters (X,Y,Z) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 15 min of cooking time for each parameter. $\pm$ Standard deviation obtained from 6 samples.

The hardness values of the manna bar samples cooked at 110°C, hardness values of the samples increased with increasing mixing time at the different cooking times. Also, at 5 and 10 min cooking, they were significant ($P < 0.05$), but not significantly affected ($P > 0.05$) for 15 min cooking. Speziale et al. (2010b) reported that in the production of Italian torrone, cooking for a longer time leads to harder texture than desired. In another study, Hojjati et al. (2015b) found that hardness of Gaz (Iranian type manna bar) changed between 31.6 Newton (N) to 257 N depending on the amount of almond and pistachio nuts. Adhesiveness values at 5 and 10 min cooking of the samples were not significant ($P > 0.05$) at different mixing times. However, adhesiveness values at 15 min cooking time increased between 10 and 20 min mixing, and then it decreased significantly ($P \leq 0.05$) at 30 min mixing. Hojjati et al. (2015b) found that adhesiveness values ranged between -21.1 N.sec. to -1.9 N.sec., and it was mainly related with the surface free oil comes from almond and pistachio.

The manna bar produced at 120°C, hardness value of the samples increased significantly ($P < 0.05$) by increasing mixing times for 5, 10 and 15 min cooking times. Adhesiveness values of the samples at 5 min cooking time decreased significantly ($P \leq 0.05$) between 10 and 20 min mixing time, but it was not significant ($P > 0.05$) between 20 and 30 min mixing. At 10 min cooking, adhesiveness values were significantly ($P \leq 0.05$) decreased, and then increased during the mixing time. At 15 min cooking time, adhesiveness values of the samples decreased not significantly ($P > 0.05$) between 10 and 20 min mixing time, but at 30 min mixing time it increased significantly ($P < 0.05$). Speziale et al. (2010) found similar results that lower and/or shorter cooking time caused more adhesive product.

Vázquez-Araujo et al. (2006) and Speziale et al. (2010a) concluded that process parameters such as cooking time and temperature and mixing time are the main factors affecting the textural attributes of *Xixona turron* and Italian turrone like manna bar. Higher temperatures used for cooking

by reduced time cause softer products of Spanish *Xixona turron*. Therefore, during the production of manna bar cooking time and temperature with mixing time should be arranged to produce standard textural attributes.

Springiness value decreased for 100 and 110°C, however, it increased for 120°C. Cohesiveness and chewiness values increased by increasing cooking temperature and time with mixing time. Chewiness, related with hardness, is increased by increasing hardness. Generally, these samples produced at 100°C, did not give a good result due to the soft samples by producing at low temperature.

Hojjati et al. (2015a) studied different samples of Spanish Turrón, Italian Torrone and French Nougat. The hardness found 55.3, 36.9, 20.3, 104.0, 43.7 and 127 N, and for adhesiveness 3.39, 0.68, 7.72, 8.75, 1.24, and 3.49 N.s. The manual control over operational conditions (temperature and time) also leads to different final textures (Speziale et al., 2010a).

The importance of textural properties in the current study was effective to make better manna bar. Softness or hardness is closely related to the quality of the texture as the manna bar should be enough firms to be consumed. Process temperature and time are the main reason in developing of textural attributes of manna bar during production. Therefore, high temperature and long time had significant effect on the texture. By increasing temperature and time, it caused the formation of hard product by losing water. Also, after adding egg white, textural attributes were also affected by mixing time.

Table 4. Changes in texture in manna bar at 100, 110 and 120°C for different cooking time and mixing time

Cooking temperature (°C)	Cooking time (min)	Mixing time (min)	Hardness (g)	Adhesiveness (g.sec)	Springiness (%)	Cohesiveness (%)	Chewiness (g)
100	5	10	131.56 ±1.32 ^a	-1.05±0.02 ^a	0.70 ±0.01 ^a	0.30±0.01 ^a	28.18 ±1.26 ^a
		20	140.44 ±1.32 ^b	-0.98 ±0.01 ^b	0.51±0.00 ^b	0.33±0.00 ^b	24.31 ±0.38 ^b
		30	144.70 ± 0.41 ^c	-0.31 ±0.00 ^c	0.38±0.01 ^c	0.28 ±0.00 ^a	15.65 ±0.68 ^c
	10	10	156.68 ±2.31 ^A	-1.02 ±0.00 ^A	0.41 ±0.08 ^A	0.31 ±0.00 ^A	20.59 ±4.09 ^A
		20	164.15 ±0.82 ^A	-0.61 ±0.02 ^B	0.35 ±0.00 ^A	0.32 ±0.01 ^A	18.46 ±1.36 ^A
		30	243.08 ±12.97 ^B	-0.45 ±0.02 ^C	0.39 ±0.00 ^A	0.37 ±0.01 ^B	35.86 ±1.02 ^B
	15	10	181.39 ±1.40 ^X	-0.97 ±0.01 ^X	0.38 ±0.02 ^X	0.31 ±0.00 ^X	22.37 ±1.92 ^X
		20	199.15 ±1.81 ^Y	-0.60 ±0.02 ^Y	0.38 ±0.01 ^X	0.29 ±0.00 ^X	18.42 ±0.06 ^X
		30	279.88 ±0.74 ^Z	-0.44 ±0.02 ^Z	0.31 ±0.04 ^X	0.32 ±0.01 ^X	34.75 ±5.55 ^Y
110	5	10	215.04 ±7.51 ^a	-0.06 ±0.01 ^a	0.45 ±0.02 ^a	0.28 ±0.02 ^a	27.61 ±1.75 ^a
		20	296.69 ±3.91 ^b	-0.25 ±0.01 ^a	0.32 ±0.02 ^b	0.28 ±0.00 ^a	27.97 ±2.69 ^a
		30	317.21 ±0.66 ^c	-0.00 ±0.43 ^a	0.32 ±0.02 ^b	0.33 ±0.01 ^a	34.32 ±4.65 ^a
	10	10	262.65 ±6.27 ^A	0.01 ±0.39 ^A	0.35 ±0.02 ^A	0.30 ±0.02 ^A	27.89 ±1.55 ^A
		20	310.73 ±2.72 ^B	-0.30 ±0.00 ^A	0.34 ±0.00 ^A	0.30 ±0.01 ^A	32.66 ±2.58 ^A
		30	370.73 ±7.73 ^C	-0.32 ±0.01 ^A	0.40 ±0.01 ^B	0.42 ±0.01 ^B	65.12 ±6.51 ^B
	15	10	301.32 ±0.33 ^X	-0.08 ±0.01 ^X	0.32 ±0.02 ^X	0.31 ±0.01 ^X	31.35 ±0.79 ^X
		20	413.61 ±73.36 ^X	-0.02 ±0.00 ^Y	0.35 ±0.01 ^X	0.35 ±0.00 ^Y	51.88 ±11.96 ^X
		30	433.12 ±0.82 ^X	-0.20 ±0.00 ^Z	0.42 ±0.00 ^Y	0.43 ±0.00 ^Z	79.71 ±1.48 ^Y
120	5	10	383.21 ±4.32 ^a	-0.11 ±0.00 ^a	0.39 ±0.00 ^a	0.40 ±0.00 ^a	61.10 ±0.36 ^a
		20	424.94 ±0.99 ^b	-0.26 ±0.00 ^b	0.44 ±0.02 ^{ab}	0.44 ±0.00 ^b	84.47 ±5.79 ^b
		30	609.55 ±5.94 ^c	-0.28 ±0.00 ^b	0.44 ±0.01 ^b	0.48 ±0.00 ^c	145.96 ±7.54 ^c
	10	10	459.64 ±8.26 ^A	-0.17 ±0.03 ^A	0.36 ±0.03 ^A	0.39 ±0.00 ^A	66.16 ±6.65 ^A
		20	488.97 ±3.30 ^B	-0.81 ±0.02 ^B	0.41 ±0.03 ^{AB}	0.41 ±0.01 ^{AB}	85.34 ±10.23 ^A
		30	558.55 ±57.08 ^C	-0.63 ±0.01 ^C	0.45 ±0.00 ^B	0.46 ±0.03 ^B	118.49 ±2.82 ^B
	15	10	656.16 ±43.29 ^X	-0.42 ±0.05 ^X	0.39 ±0.06 ^X	0.45 ±0.01 ^X	118.02 ±23.73 ^X
		20	821.90 ±5.70 ^Y	-0.47 ±0.00 ^X	0.46 ±0.00 ^X	0.46 ±0.00 ^X	174.37 ±3.96 ^Y
		30	852.57 ±4.62 ^Y	-0.05 ±0.04 ^Y	0.50 ±0.00 ^X	0.50 ±0.00 ^Y	215.78 ±5.97 ^Y

Small letters (a,b,c) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 5 min of cooking time for each parameter. Capital letters (A,B,C) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 10 min of cooking time for each parameter. Capital letters (X,Y,Z) show significant difference mixing time at $\alpha = 0.05$ for 15 min of cooking time for each parameter. $\pm$ Standard deviation obtained from 6 samples

Optimization of Manna Production

Process optimization of manna bar was done by using Response Surface Analysis. Optimization of the manna bar processing was done as considering; minimize L*, a*, BI, adhesiveness, and springiness. Moreover, for optimization hardness and chewiness values were taken as 562 g and 129 g, respectively. The desirability value used for optimization of the manna bar processing was obtained by the use of Design Expert program. It's results showed that cooking at 120°C for 10.10 min and mixing of 21.26 min was the best condition for manna bar processing as desirability = 0.682 (Figure 2).

Process optimization reported in the literature for different food processing by Response Surface Methodology (Medina et al., 2021) or Artificial

Neural Network (Sadhu et al. 2020). Medina et al. (2021) used RSM for rice cooking and they found that desirability was greater than 0.6. Marra et al. (2023) used D-optimal design, to plan the cocoa hazelnut spread formulations. They found that optimized formulation was identified in a spread characterized by a total replacement of palm oil with an oleogel made of 95% olive oil and 5% GMS.

Results indicated that manna bar production should be done at those optimum conditions to get high quality. Process optimization is an important issue to prevent over burning (causing a lot of health adverse effect compound formation from Maillard reaction and quality losses), to prevent very soft texture and to prevent sticky product formation.

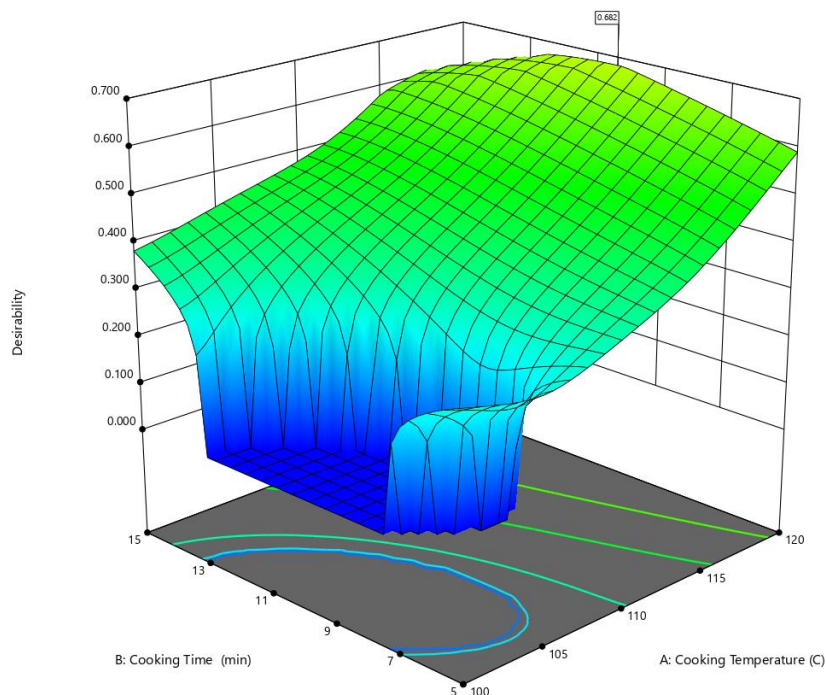


Figure 2. Optimization of manna bar processing

Conclusion

This study presents production of manna and investigating its properties by many of analysis. In this study, moisture content, pH value, color and textural properties were followed during mixing time (10, 20 and 30 min) at different cooking time (5, 10 and 15 min) and different cooking temperature at 100, 110 and 120°C. By increasing cooking temperature, cooking time and mixing time decreased moisture content but increased hardness and chewiness. Increasing mixing time increased pH and lightness values, but decreased redness, yellowness, CIE YI, and BI values. The best condition obtained from optimization for producing of manna bar was found as cooking at 120°C for 10.10 min and mixing 21.26 min. Therefore, that product was not so soft and hard, also it was suitable for eating with an acceptable color.

Acknowledgements: The authors thank Gaziantep University.

Conflict of interest: The authors declare that they have no conflict of interest.

Author contributions: Hüseyin Bozkurt investigation, writing, editing and submitting; Ribin Anwer Mahmood data collection and analysis.

References

- Al Safi, M.A., Rashid, H.M., Afifi, F.U., & Talib, W.H. (2022). Gaz Alafi: Traditional dessert in the Middle East with anticancer, immunomodulatory, and antimicrobial activities. *Frontiers in Nutrition. Sec. Nutritional Epidemiology*. 9: e article: 900506.
- Bayram, M., & Bozkurt, H. (2007). The use of bulgur as a meat replacement: bulgur sucuk (a vegetarian dry fermented sausage). *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 87:411-419.
- Bodenheimer, F.S. (1947). The manna of Sinai. *The Biblical Archaeologist*. 10:2-6.
- Bozkurt, H. & Bayram, M. (2006). Colour and textural attributes of sucuk during ripening. *Meat Science*. 73:344-350.
- Erkan, M.E., Vural, A., Baran, M.S., Güran, H.S., & Durmusoglu, H. (2014). Physico-chemical and microbiological properties of manna (gezo) samples collected from retailers in south-east of Turkey. *Research on Crops*. 15:902-906.
- Gunawan, M.I., & Barringer, S.A. (2000). Green color degradation of blanched broccoli (*Brassica oleracea*) due to acid and microbial growth. *Journal of Food Processing and Preservation*. 24:253-263.
- Harrison, S.G. (1950). Manna and its sources. *Kew Bulletin*. 5:407-417.
- Hojjati, M., Speziale, M., Vázquez-Araújo, L., Mincione, A., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2015a). Instrumental texture properties of Spanish Turrón, Italian Torrone and French Nougat. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*. 1:21-29.
- Hojjati, M., Speziale, M., Noguera-Artiaga, L., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2015b). Volatile Composition, Texture and Sensory Description of Gaz (Traditional Persian Confection). *Journal of Texture Studies*. 46:440-454.

- Jeffery, M.S. (2001). Grained and ungrained confections. *Manufacturing Confectioners*. 73:47-48.
- Lanza, A.T. (2005). Sicilian Manna: A Sweet Gift of Nature. *Gastronomica*. 5: 38-40.
- Leibowitz, J. (1944). Isolation of trehalose from desert manna. *Biochemical Journal*. 38:205.
- Mahmood, R.A. (2017). An investigation of changes in physical and chemical properties of manna during storage. M.Sc. Thesis in Food Engineering Gaziantep University.
- Marra, F., Lavorgna A., Incarnato, L., Malvano, F., & Albanese, D. (2023). Optimization of hazelnut spread based on total or partial substitution of palm oil. *Foods*. 12(16), 3122.
- Medina, M.B., Resnik, S.L., & Munitz, M.S. (2021). Optimization of a rice cooking method using response surface methodology with desirability function approach to minimize pesticide concentration. *Food Chemistry*. 352: 129364
- Sabry, Z.I., & Atallah, N.A. (1961). Identification of sugars in the manna of Northern Iraq. *Nature*. 190:915-916.
- Sadhu, T., Banerjee, I., Kumar S.L., & Chakrabarty, J. (2020). Modeling and optimization of cooking process parameters to improve the nutritional profile of fried fish by robust hybrid artificial intelligence approach. *Journal of Food Process Engineering*. 43:e13478.
- Saito, Y., Garza, T.J., & Horwitz, E.K. (1999). Foreign language reading anxiety. *The Modern Language Journal*. 83:202-218.
- Sdiq, S.J.M., & Saeed, M.W.M. (2019). Physicochemical study for manna (gazo) collected from different places of sulaimani governorate. *Journal of Food Dairy Science*. 10:423–426.
- Speziale, M., Vazquez-Araujo, L., Mincione, A., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2010a). Instrumental Texture of Torrone of Taurianova (Reggio Calabria, Southern Italy). *Italian Journal Food Science*. 22:441-448.
- Speziale, M., Vázquez-Araújo, L., Mincione, A., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2010b). Volatile composition and sensory analysis of Italian gianduja torrone. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 90:1605-1613.
- Tijskens, L.M.M., Schijvens, E.P.H.M., & Biekman, E.S.A. (2001). Modelling the change in colour of broccoli and green beans during blanching. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2:303-313.
- Vázquez, L., Verdú, A., Miquel, A., Burló, F., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2007). Changes in physico-chemical properties, hydroxymethylfurfural and volatile compounds during concentration of honey and sugars in Alicante and Jijona turrón. *European Food Research and Technology*. 225:757-767.
- Vázquez-Araujo, L., Verdú, A., Mucia, R., Burló, F., & Carbonell-Barrachina, A.A. (2006). Instrumental texture of a typical Spanish confectionery Xixona Turrón as affected by commercial category and manufacturing company. *Journal of Texture Studies*. 37:63-



Some chemical characteristics and volatile compound profiles of wild foxtail lily (*Eremurus spectabilis*)

Yabani çiriş otunun (Eremurus spectabilis) bazı kimyasal özellikleri ve uçucu bileşik kompozisyonu

Belkis TEKGÜLER^{1*}, İlkey KOCA², Oscar ZANNOU³, Bülent KARADENİZ⁴

^{1,2}Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun, Türkiye

³Laboratory of Valorization and Quality Management of Food Bio-Ingredients, Faculty of Agricultural Sciences, University of Abomey-Calavi, Cotonou, Benin

⁴TUBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gebze-Kocaeli, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-7850-8013>; ²<https://orcid.org/0000-0001-6089-8586>; ³<https://orcid.org/0000-0003-1227-1265>; ⁴<https://orcid.org/0000-0003-2392-6589>

To cite this article:

Tekgüler, B., Koca, İ., Zannou, O. & Karadeniz, B. (2024). Some chemical characteristics and volatile compound profiles of wild foxtail lily (*Eremurus spectabilis*). Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 108-117
DOI: 10.29050/harranziraat.1385714

*Address for Correspondence:

Belkis TEKGÜLER

e-mail:

belkisg@omu.edu.tr

Received Date:

03.11.2023

Accepted Date:

23.01.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

ABSTRACT

The wild Foxtail lily (*Eremurus spectabilis*) is a valuable vegetable consumed in different forms as food and employed as a remedy for preventive and curative purposes. In the present study, the physicochemical and antioxidant properties and the volatile compounds of the leaves and stem parts of wild Foxtail lily were determined. The moisture content, ash, pH, crude fibre, crude protein and crude fat were determined as 93.90% and 90.90%; 0.48% and 0.70%; 5.01 and 5.01; 0.62% and 1.06%; 1.4% and 2.27%; and 0.60% and 0.60% in stem and leaf, respectively. L^* , a^* and b^* values were found to be 67.77 and 46.70; -8.99 and -12.85; and 22.54 and 17.48 in stem and leaf, respectively. The total phenolic content, FRAP and DPPH were found in stem and leaf as 897.75 and 1781.83 mg GAE kg⁻¹; 5.26 and 12.29 mmol ISE g⁻¹; and 40.81 and 89.55 mmol TE g⁻¹, respectively. 11 volatile compounds were detected in Foxtail lily stem and leaf, including 3 aldehydes, 3 alcohols, 1 ester, 1 furan, 1 sulfur compound, 1 nitrogen compound and 1 aliphatic hydrocarbon. Acetaldehyde, dimethyl sulfide, methyl isocyanide and ethyl alcohol were the most important volatile compounds detected in the headspace of Foxtail lily. The leaf part presented the highest physico-chemical and antioxidant properties, while the headspace of stem provided the highest volatile compounds.

Key Words: Foxtail lily, antioxidant activity, volatile compounds, HS-SPME/GC-MS

Öz

Yabani çiriş otu (*Eremurus spectabilis*) farklı şekillerde gıda olarak tüketilen, koruyucu ve tedavi edici amaçlarla ilaç olarak kullanılan değerli bir sebzedir. Bu çalışmada, çiriş otunun yaprak ve sap kısımlarının fiziko-kimyasal ve antioksidan özelliklerinin yanı sıra uçucu bileşikler de belirlenmiştir. Gövde ve yaprakta nem, kül, pH, ham lif, ham protein ve ham yağ içeriği sırasıyla %93.90 ve %90.90; %0.48 ve %0.70; 5.01 ve 5.01; %0.62 ve %1.06; %1.4 ve %2.27; ve %0.60 ve %0.60 olarak belirlenmiştir. L^* , a^* ve b^* değerleri ise gövde ve yaprakta sırasıyla 67.77 ve 46.70; -8.99 ve -12.85; 22.54 ve 17.48 olarak bulunmuştur. Toplam fenolik madde, FRAP ve DPPH değerleri gövde ve yaprakta sırasıyla 897.75 ve 1781.83 mg GAE kg⁻¹; 5.26 ve 12.29 mmol ISE g⁻¹; 40.81 ve 89.55 mmol TE g⁻¹ olarak bulunmuştur. Çiriş otunun gövde ve yaprağında 3 aldehit, 3 alkol, 1 ester, 1 furan, 1 kükürtlü bileşik, 1 azotlu bileşik ve 1 alifatik hidrokarbon olmak üzere 11 uçucu bileşik tespit edilmiştir. Asetaldehit, dimetil sülfür, metil izosiyanür ve etil alkol çiriş otunda tespit edilen en önemli uçucu bileşiklerdir. Yaprak kısmının antioksidanlarca, gövde kısmının uçucu bileşikler açısından daha zengin olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Çiriş, antioksidan aktivite, uçucu bileşikler, HS-SPME/GC-MS

Introduction

Plants which are edible or not edible contain different bioactive compounds (Karakaya et al., 2017). Foxtail lily (Çiris) *Eremurus spectabilis* Syn. *Asphodelus aestivus* or *Asphodelus microcarpus* is in the Liliaceae family. It grows in South Asia and Central Asia, including Iran, West Pakistan, Afghanistan, Iraq, Turkey, Palestine, Lebanon, Syria and the Caucasus. (Pourfarzad et al., 2014). It is a perennial herb that is about 1 meter tall with linearly large leaves (length 20-60 cm and width 4.5 cm) and long root (10-20 cm). *E. spectabilis* is widely distributed throughout the provinces of Turkey, such as Erzurum, Sivas, Yozgat, Bitlis, Usak, Kars, Agri, Erzincan, Van, Artvin and Ardahan (Aysu and Demirbas, 2014). *E. spectabilis* is locally called as “Çiris, Çireş, Dağ pırasası, Gülük, Kiriş, Sarı çiris, Sarı zambak, Yabani pırasa” in Turkey (Tosun et al., 2012).

People living in Eastern Anatolia mostly get inadequate yields from agricultural products due to unfavorable climatic conditions and high altitudes. People in this area often use wild plants as a supplement to their general diet (Tosun et al., 2012). *E. spectabilis* is collected from nature and the young shoots and fresh leaves are cooked and consumed as vegetables. The root, blooming stem and seeds are used in various diets. It can be combined with purslane and spinach to give a prized taste. It is cooked similarly to cooking spinach by adding bulgur or sauteed with eggs, and eaten. It is also used as an ingredient for cheese making. *E. spectabilis* is traditionally used in folk medicine as antidysuria and antihypertensive as well as to treat some ailments including hemorrhoids, and diabetes, and skin problems like eczema, fungal infections (Li et al., 2000; Mamedov et al., 2008; Tosun et al., 2012; Cinar et al., 2017; Basiri et al., 2022). Also, some *Eremurus* species have commercial value as ornamental plants (Hadizadeh et al., 2020).

The root, leaf and stem are rich in nutrients and bioactive compounds including protein, vitamin C, β -carotene, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, methyl linolenate, chrysophanol, β -sitosterol, isoorientin,

inosine and sucrose (Tosun et al., 2012; Cinar et al., 2017; Karakaya et al., 2017). Foxtail lily has been reported to contain prebiotics such as fructans and bianthraquinone glycosides which exert tremendous nutritional and pharmaceutical applications (Li et al., 2000; Pourfarzad et al., 2014; Pourfarzad and Najafi, 2015; Beigi and Jahanbin, 2019;). It has shown antioxidant, antimicrobial and gastroprotective properties (Karaman et al., 2011; Tosun et al., 2012; Kanaani and Sani, 2015; Karaoğlu et al., 2018). Moreover, previous studies have revealed the effectiveness of Foxtail lily in prevention and treatment of cancer (Tuzcu et al., 2017). In addition, carvone, carvacrol, 2-methylpentane, (E)-caryophyllene, valencene and cis-calamenene were detected as major volatile compounds in Foxtail lily (Karaman et al., 2011), while 4-methyl-3-penten-2-one, 4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone, trimethyl benzene, 2,6-dimethyl-2,5-heptadien-4-one, 3-Acetyl-2,5-dimethyl furan and 3-(3-methyl-2-butenyl)-1H-indole were detected as major volatile compounds in Foxtail lily bio-oils (Aysu and Demirbas, 2014).

Thanks to health benefits and nutritional properties, *E. spectabilis* is a valuable edible vegetable. Hence, the main purpose of the present study was to investigate the volatile composition, nutritive value, antioxidant activity of *E. spectabilis* which is naturally grown.

Material and Methods

Plant material

Fresh Foxtail lily samples were purchased from eight different local markets in Erzurum province. After the plants were washed and the inedible parts were removed, each samples were separated into stem and leaves.

Chemical and reagents

Distilled water was obtained by means of ultra pure water system (Millipore-Q). Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), diethyl ether, TPTZ (2,4,6-tripyrindyl-s-triazine), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), sulfuric acid, Folin-Ciocalteu phenol reagent,

methanol, sodium hydroxide and gallic acid were acquired from Sigma-Aldrich. Glacial acetic acid, hydrochloric acid, sodium acetate, potassium chloride and sodium carbonate were purchased from Carlo-Erba and ferric chloride from Merck.

Extraction

The stem and leaves were extracted separately. The crushed samples were extracted in 80% (v/v) methanol, standing in refrigerator overnight. Prior to the analysis, the mixture was cooled to room temperature and filtered.

Color analysis

The color measurement was performed by a colorimeter (CR 400 chromometer, Konika Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) according to the Hunter color system, L* (Brightness: 100, white; 0, black), a* (+, red; -, green) and b* (+, yellow; -, blue). White ceramic (No: 19633162) was used for the calibration of the colorimeter.

Dry matter determination

Dry matter analysis was carried out by drying up to constant weight in the oven at 105 °C (AOAC, 2000).

Total ash determination

The total ash analysis was carried out by burning at 550 °C in the ash oven until white ash was obtained (AOAC, 2000).

Determination of pH

The samples were diluted with distilled water and kept overnight in refrigerator. Prior to the analysis, the samples were taken out from the refrigerator to reach room temperature. The pH was measured using a digital pH meter (Eutech Cyberscan, Singapore) with ± 0.01 sensitive at 20 °C.

Crude protein analysis

Protein analysis was carried out according to the Kjeldahl method (AOAC, 2000).

Crude fat analysis

Crude fat was extracted with diethyl ether in a Soxhlet device for 8 hours (AOAC, 2000).

Crude fibre determination

The crude fibre was determined using Weende method (Carrier et al., 2010). Briefly, the crude fibre was determined after an acidic hydrolysis with a 1.25% (w/v) H₂SO₄ solution for 30 min under reflux, followed by an alkaline hydrolysis with a 1.25% (w/v) NaOH solution for 30 min under reflux. The residue is filtered and washed with alcohol. It is then calcinated at 550 °C after being dried at 105 °C.

Total phenolic content (TPC)

The total phenolic content was determined according to the Folin-Ciocalteu method (Singleton and Rossi, 1965). Briefly, the samples were extracted with 80% (v/v) methanol and filtered. A volume of 750 μ l of 10% (v/v) Folin-Ciocalteu solution was added in 150 μ l diluted sample and left to react for 5 minutes before adding 600 μ l of 7.5% (w/v) sodium carbonate solution. The mixture was shaken again and placed in the dark for 2h before reading absorbance at 760 nm against blank by using a UV-VIS spectrophotometer (Helios Gamma). The standard curve drawn using gallic acid and the total phenolic content was expressed as mg GAE kg⁻¹.

FRAP assay

A volume of the diluted methanolic extract was mixed at 10:1:1 ratio with FRAP solution constituted of 300 mM acetate buffer (dissolved in 40 mM HCl): 20 mM FeCl₃: 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine). The assembly was shaken for about 5 minutes and the absorbance was read at 593 nm against a blank. FRAP values were expressed as μ M of ferrous equivalent Fe (II) per g of dry sample (Tural and Koca, 2008).

DPPH assay

The DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazyl) radical scavenging effect of the samples was determined following the previous method (Tural and Koca, 2008). 50 μ l sample was mixed with 1 mL 100 μ M

DPPH solution. The mixture was shaken and left to stand in dark for 3 h until the reaction completed. Thereafter, the absorbance was recorded at 517 nm against a control. The reduction ratio of DPPH was determined with the following equation:

$$\text{Reduction (\%)} = \left(\frac{A_c - A_s}{A_c} \right) \times 100 \quad (\text{Eq.1})$$

Where, A_c =Absorbance of control and A_s =Absorbance of extract. DPPH radical scavenging values were calculated using a calibration curve in mmol Trolox equivalents per g (mmol TE g^{-1}).

Extraction and determination of volatiles

The volatile compounds of Foxtail lily were analyzed for the stem and leaf parts using Headspace/Gas Chromatography/Mass Spectrometry (HS-SPME/GC-MS) according to the previous methods (Alasalvar et al., 2012; Shoko et al., 2014; Koca et al., 2016) with slight changes.

Headspace-Solid phase microextraction/Gas Chromatography-Mass Spectrometry (HS-SPME/GC-MS)

1 g of samples was transferred into 22 mL headspace vials (Perkin Elmer, USA). The headspace vials were immediately sealed air-tight with a silicone/polytetra-fluoroethylene (PTFE) septum (Perkin Elmer, USA) and aluminum cover (Perkin Elmer, USA). The sample was then heated at 80 °C for 60 min and then put into headspace autosampler. The transfer line was a fused silica 1m x 320 μm . The vial pressure was set at 10 psi and column pressure at 25 psi. The needle temperature was set at 90 °C and transfer line temperatures at 100 °C. The trap hold time was 6 min, and the outlet split was on. Desorbed compounds were automatically injected into a GC column (Optima-Wax, 60 m length, 0.25 mm inner

diameter, 0.25 μm film thickness). The oven temperature was 70 °C. The flow rate of the helium carrier gas was 1 mL min^{-1} . The injection was performed in the splitless mode (200 °C injection port temperature). The GC column temperature was programmed from initial holding at 35 °C for 5 min, from 35 °C to 160°C at a rate of 3 °C min^{-1} and then 15 min at 160 °C. The MS conditions were 200 °C for ion source temperature, 70 eV for ionization energy, 33-300 amu for mass scan range, 350 V electron multiplier voltage, 0.25 s for scan time, 0.05 for standby time, and electron ionization (EI) as ion mode. The analyses were performed in triplicate.

Identification of volatile compounds

The aroma compounds were determined by comparison of their retention index and their mass spectra with those of a commercial spectra database (Wiley 6, NBS 75k) and the instrument's internal library. 10 μL methyl alcohol:water (1:1) mixture was used as internal standard. The standard peaks were compared to those of samples based on their retention time and their mass spectra. The unknown chromatograms were identified by using Mass Spectral Libraries according to the retention index calculated thanks to n-alkane series ($\text{C}_6\text{-C}_{20}$).

Statistical analysis

The data were statistically evaluated by one way ANOVA and t test (ver. 21.0, SPSS) at a 0.05 level of significance.

Results and Discussion

Physico-chemical characteristics

The physico-chemical properties of stem and leaf parts of Foxtail lily (Çiriş) were assigned in Table 1.

Table 1. Physico-chemical and antioxidant characteristics of Foxtail lily

Characteristics	Stem	Leaf
L*	67.77±3.13 a	46.70±2.20 b
a*	-8.99±0.60 a	-12.85±1.02 b
b*	22.54±2.53 a	17.48±2.43 b
Moisture content, %	93.90±1.05 a	90.90±1.34 b
pH	5.01±0.14	5.01±0.11
Ash, %	0.48±0.06 b	0.70±0.12 a
Crude fibre, %	0.62±0.11 b	1.06±0.14 a
Crude protein, %	1.45±0.29 b	2.27±0.47 a
Crude fat, %	0.60±0.11	0.60±0.12
Total phenolic content, mg GAE kg ⁻¹	897.75±105.90 b	1781.86±652.45 a
FRAP, µmol ISE g ⁻¹	5.26±1.64 b	12.29±4.86 a
DPPH, mmol TE g ⁻¹	40.81±12.20 b	89.55±10.71 a

*Means and standard deviations; Different letters in the same line show the significant differences between the values(p<0.05).

The Foxtail lily stem and leaf had moisture content mean values of 93.90% and 90.90%. In some previous literatures, the moisture content range was reported as 86.62-92.00% (Tosun et al., 2012; Cinar et al., 2017). The highest moisture content was determined in the stem and the lowest in the leaf part. The pH was found to be 5.01 in both stem and leaf. This finding was found in agreement with the results Tosun et al. (2012) who have reported pH ranged from 4.78 to 5.14 in the aerial part of eight different Foxtail lily plants. The ash values were detected as 0.48% in the stem and 0.70% in the leaf part. The value detected in the leaf part was found to be accordance with the results of the previous studies (0.61-1.11%) (Tosun et al., 2012; Cinar et al., 2017), however, a lower total ash value was found in the stem. Likewise, the ash values detected in the stem and leaf parts in the present study were found lower than the values identified previously in Foxtail lily root powder (6.09%) (Pourfarzad and Najafi, 2015). The color characteristics of the stem were mixture color of lightness (L*=67.77), greenness (a*=-8.99) and yellowness (b*=22.54). Likewise, color properties of the leaf parts were mixture color of lightness (L*=46.70), greenness (a*=-12.85) and yellowness (b*=17.48). However, the leaf part of Foxtail lily was found less bright, greener and less yellow when compared to the stem. When comparing these color values to the literature, although the dried Foxtail lily high level fructan which had brightness character (L=37.41-71.20), it had higher a* value (a=0.68-4.06 (redness)) and lower b* value (b=7.13-11.13 (greenness)). When

compared to the literature, due to its high fructan level, the brightness character L* of dried Foxtail lily varies between 37.41-71.20 it had a high a* value (a=0.68-4.06 (redness)) and low b* value (b=7.13-11.13 (greenness)) (Pourfarzad et al., 2015).

The average crude fibre was determined as 0.62% and 1.06% in Foxtail lily stem and leaf, respectively. These findings were found lower when compared to the previous study which has revealed 2.75% crude fibre in Foxtail lily leaf. These variations could be attributed to the cultural conditions, genetic and experimentation aspects. For the studied Foxtail lily in this work, the highest crude fibre was identified in the leaf part and lower in the stem (Table 1). The average crude fat was determined as 0.60% in both the stem and leaf parts. Similar crude fat of 0.46% has been reported previously in Foxtail lily leaf, however, higher crude fat of 7.23% has been detected in Foxtail lily root powder (Pourfarzad et al., 2015). The crude protein was 1.45% for the stem and 2.27% for the leaf. These results were found higher than the value reported by Cinar et al. (2017), however, the crude protein found in the stem was in accordance with that identified previously young Foxtail lily leaf (Tosun et al., 2012).

Antioxidant characteristics

The antioxidant properties encompassing total phenolic content, DPPH radical scavenging and FRAP values of Foxtail lily stem and leaf were given in Table 1. The average of total phenolic content was 897.75 GAE mg kg⁻¹ in the stem and 1781.86

mg GAE kg⁻¹ in the leaf. These findings were found lower than the values of total phenolic content reported in the previously in Foxtail lily (Karaman et al., 2011; Tosun et al., 2012; Falahi et al., 2019). However, Karadeniz et al. (2015) reported that the total phenolic content was lower than our results. Likewise, the total phenolic content of Foxtail lily leaf and root extracted with acetone has been found in accordance with our results, while the ethanolic and aqueous extracts have displayed lower values (Tuzcu et al., 2017). The total phenolic content detected in the stem was found lower when compared to value figured out in the leaf. The mean FRAP values were 5.26 and 12.29 mmol ISE g⁻¹ in Foxtail lily stem and leaf, respectively. As can be seen, the highest FRAP values were detected in the leaf, while the lowest in the stem.

The values of DPPH free radical scavenging were 40.81 and 89.55 mmol TE g⁻¹ in the stem and leaf, respectively. These values were found higher than the values reported by Tosun et al. (2012), while lower than other previous studies (Falahi et al., 2019). The variations observed amongst the antioxidant properties of Foxtail lily could be associated with the genetic, cultivation conditions, analysis methods and the part analyzed. It was remarked that the total phenolic content, FRAP and DPPH values were higher in the leaf.

Volatile compounds

The headspace volatile compounds of Foxtail lily (stem and leaf parts) samples were presented as a percent with the linear retention index (LRI) values in Table 2.

Table 2. Headspace volatile compounds (%) of Foxtail lily.

No	LRI	RT	Volatile compounds	Stem	Leaf
Aldehydes					
1	814	4.853	Acetaldehyde	22.95±8.66	13.64±12.57
2	1009	7.724	3-Methyl butanal	1.71±1.54	2.78±1.62
3	1158	13.571	Hexanal	0.15±0.14	0.12±0.09
			Total	24.81	16.54
Alcohols					
4	1045	9.072	Ethyl alcohol	4.71±2.55	3.63±1.27
5	1333	20.551	2-Methyl-1-butanol	0.32±0.48	0.61±0.60
6	1819	40.444	3-Furfuryl alcohol	0.14±0.11	0.11±0.12
			Total	5.17	4.35
Ester					
7	933	6.061	Methyl acetate	1.25±0.80	2.28±1.27
			Total	1.25	2.28
Furan					
8	988	7.135	2-Methyl furan	0.12±0.07	0.34±0.37
			Total	0.12	0.34
Sulfur compound					
9	868	5.204	Dimethyl sulfide	8.50±2.76	5.44±2.96
			Total	8.50	5.44
Aliphatic hydrocarbon					
10	748	4.462	Hexane	2.10±0.76	2.53±0.69
			Total	2.10	2.53
Volatile nitrogen					
11	1084	10.525	Methyl isocyanide	5.61±2.26	5.66±2.63
			Total	5.61	5.66
			General total	47.56	34.61

LRI: linear retention index calculated on DB-WAX capillary column Concentration: Means of three repetitions (%).

Eleven most abundant volatile compounds were detected in Foxtail lily stem and leaf, including three aldehydes, three alcohols, one ester, one furan, one sulfur compound, one nitrogen compound and one aliphatic hydrocarbon. In contrast, terpenes have been

reported as the most dominant aromatic class in Foxtail lily, followed mainly by aldehydes, ketones, alcohols and esters (Karaman et al., 2011; Falahi et al., 2019). These differences might probably be associated with the cultivation conditions, extraction and analysis techniques since volatile

compounds have been reported to be very sensitive to the operating conditions (Roux et al., 2008; Koca et al., 2016; Amanpour et al., 2019; Zannou et al., 2020). It has been mentioned before that 11 volatile compounds were detected representing about 47.56% and 34.61% of the total volatiles in the Foxtail lily stem and leaf, respectively. Despite differences determined in the amounts of volatile compounds of Foxtail lily stem and leaf, the pattern of these compounds was found to be quite similar ($p>0.05$) (Table 2). Acetaldehyde was the most abundant volatile compound discovered in the studied Foxtail lily samples, followed by dimethyl sulfide, methyl isocyanide and ethyl alcohol, respectively.

Aldehyde compounds.

Aldehydes were the most important volatile group of the studied Foxtail lily, representing 24.81% and 16.54% in stem and leaf, respectively. It is worth mentioning that aldehydes are widespread in plants and derived products as one of the major volatile groups which affect their overall aroma profile (Modise et al., 2004; Alasalvar et al., 2012; Amanpour et al., 2019). Three aldehyde compounds have been detected in Foxtail lily samples, including acetaldehyde as a major compound followed by 3-methyl-butanol and hexanal, respectively. The aldehydes identified for Foxtail lily and were mostly concentrated in the stem than leaf (Table 2). The volatile compounds might be short carbon chain aldehydes, alcohols, and esters produced in higher plants during the lipoxygenase (LOX) pathway. They give characteristic flavor of vegetables, fruits and green leaves (Vincenti et al., 2019). The aldehydes have 6-9 carbons and are formed from fatty acids by lipoxygenase and hydroperoxide lyase enzymes (Choi et al., 2017). The C6 and C9 aldehydes, alcohols and their esters give the typical odor of damaged leave and have a characteristic green and fruity smell. They are known as green-leaf volatiles which are responsible for fresh green aroma in vegetables and fruits (Vincenti et al., 2019). Fidler (1967) reported that the formation of acetaldehyde

occurs naturally in plant tissues or through the metabolism of carbohydrate and acid, during fermentation under microbiological action on sugar and amino acids (Liu and Pilone, 2000), and through enzymatic reactions (Tajima et al., 1982). Some researchers explain the acetaldehyde is one of the key odorants in wine (Liu and Pilone, 2000) and cheese (Engels et al., 1997). Acetaldehyde and hexanal have been identified in strawberry (Modise et al., 2004), while 3-methylbutanal and hexanal have mentioned in black tea among major aroma compounds (Alasalvar et al., 2012). While acetaldehyde gives the green apple aroma, 3-methylbutanal and hexanal volatiles give the green, nutty and green grass aroma (Zhogoleva et al., 2023). The aldehydes can transform into the corresponding alcohols or esters (Engelberth and Engelberth, 2020).

Alcohol compounds.

Alcohols represented the second most significant aromatic compounds discovered in the present study. Alcohols are sub-products occurring during enzymatic (especially under lipoxygenase) and degradation of fatty acids (Chen et al., 1998). The highest amount of alcohol was detected in the stem (5.17%), while the lowest in the leaf (4.35%) (Table 2). Three alcohols were identified in Foxtail lily, with ethyl alcohol as a major compound, followed by 2-methyl-1-butanol and 3-furfuryl alcohol, respectively. These compounds were reported for the first time in Foxtail lily. However, other aliphatic alcohols (2-ethyl-hexanol, 1-octanol, hexenol and 3,4-dimethylcyclohexanol) have been previously reported in Foxtail lily (Karaman et al., 2011; Falahi et al., 2019). Ethyl alcohol has been mentioned among the main aroma contributors of broccoli (Jacobsson et al., 2004) and black tea (Alasalvar et al., 2012), whereas furfuryl alcohol has been reported in roselle infusions (Zannou et al., 2020). Quantitatively, 3-methyl-1-butanol has been reported to be one of the major parts of the volatiles in apples (Aaby et al., 2002) and Cape Gooseberry (Yilmaztekin, 2013).

Sulfur and nitrogen compounds.

Dimethyl sulfide was the second most important volatile compound detected in Foxtail lily samples. Volatile sulfur compounds have been widely reported in Cruciferous vegetables as responsible for objectionable sulfurous aromas and overcooked off-flavors (Chin and Lindsay, 1993). However, some sulfur-containing volatile compounds, such as hydrogen sulfide, which imparts a rotten egg-like aroma, impair the sensory quality of foods, while some sulfur compounds, such as 3-mercaptohexanol, which imparts fruitiness, have a positive effect on the taste and aroma of some fermented products such as wine (Swiegers and Pretorius, 2007). In this study, dimethyl sulfide was identified in Foxtail lily, and was determined as 8.50% in the stem and 5.44% in the leaf. Previously, dimethyl sulfide has been reported in cabbage (Chin and Lindsay, 1993), garlic (Koca et al., 2016), longleaf and ben fry (Falahi et al., 2019). Methyl isocyanide was the third most important volatile compound detected in Foxtail lily. It is a major volatile transformation product of the fumigant metam sodium which may have a risk on human health and environmental receptors (Geddes et al., 1995). In a study, dimethylsulfide and methyl isothiocyanate and methyl isocyanide volatiles identified in marine sponge extract were found to be responsible for antimicrobial activity and nauseating and toxic odor (Duque et al., 2001). In the present study, methyl isocyanide was determined as 5.66% and 5.61% in the foxtail lily leaf and stem, respectively. The studies have shown that methyl isocyanide is among the main volatile compounds of marine sponge (Duque et al., 2001; Pawlik et al., 2002) and körmən (Koca et al., 2016). It has been previously reported among major volatile compounds of the marine sponge (Duque et al., 2001; Pawlik et al., 2002) and körmən (Koca et al., 2016).

Other compounds.

Methyl acetate, 2-methyl furan and hexane were also detected among Foxtail lily headspace volatile constituents. In a previous study, methyl acetate in watermelon (Pino et al., 2003) and 2-

methyl furan in malt (Dong et al., 2013) were found among the main volatile compounds.

Conclusion

In this study, some physical and chemical characteristics, antioxidant properties and determination of volatile compounds in stem and leaf parts of wild-grown Foxtail lily (*Eremurus spectabilis*) were evaluated. The results revealed significant differences in physical, chemical and antioxidant properties of stem and leaf. The highest total phenol content, FRAP and DPPH values were determined in the leaf part. 11 volatile compounds were detected in Foxtail lily stem and leaf, including 3 aldehydes, 3 alcohols, 1 ester, 1 furan, 1 sulfur compound, 1 nitrogen compound and 1 aliphatic hydrocarbon. Acetaldehyde, dimethyl sulfide, methyl isocyanide and ethyl alcohol were the most important volatile compounds detected in the headspace of Foxtail lily. The aromatic and bioactive compounds in its structure might vary depending on the geography where it grows. Foxtail lily, a wild herb and, in addition to being edible, it can be seen as a nutritious vegetable due to its bioactive components. The fact that the plant is not yet produced agriculturally causes it to be collected unconsciously from nature and limits its use only to local cuisines.

Conflict of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Authors' Contribution: B.T. data collection, analysis, writing, editing, submitting the manuscript; İ.K. conceptualization, methodology, data collection, analysis and writing; O.Z. writing, review and editing; B.K. analysis.

References

- Aaby, K., Haffner, K., & Skrede, G. (2002). Aroma quality of gravenstein apples influenced by regular and controlled atmosphere storage. *LWT- Food Science Technology*, 35(3), 254–259.
DOI: <https://doi.org/10.1006/fstl.2001.0852>
- Alasalvar, C., Topal, B., Serpen, A., Bahar, B. & Pelvan, E.

- (2012). Flavor Characteristics of seven grades of black tea produced in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(25), 6323-6332. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf301498p>
- Amanpour, A., Zannou, O., Kelebek, H., & Selli, S. (2019). Elucidation of Infusion-Induced Changes in the Key Odorants and Aroma Profile of Iranian Endemic Borage (*Echium amoenum*) Herbal Tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(9), 2607-2616. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b00531>
- AOAC, (2000). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. 17th ed. USA.
- Aysu, T., & Demirbas, A. (2014). Evaluation of *Eremurus spectabilis* for production of bio-oils with supercritical solvents. *Process Safety and Environmental Protection*, 94, 339-349. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.psep.2014.08.005>
- Basiri, Y., Etemadi, N., Alizadeh, M., & Alizargar, J. (2022). In Vitro Culture of *Eremurus spectabilis* (Liliaceae), a Rare Ornamental and Medicinal Plant, through Root Explants. *Horticulturae*, 8(3), 202. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8030202>
- Beigi, M., & Jahanbin, K. (2019). A water-soluble polysaccharide from the roots of *Eremurus spectabilis* M. B. subsp. *spectabilis*: Extraction, purification and structural features. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 648-654. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.01.178>
- Carrier, M., Loppinet-serani, A., Denux, D., & Lasnier, J. (2010). Thermogravimetric analysis as a new method to determine the lignocellulosic composition of biomass. *Biomass and Bioenergy*, 35(1), 298-307. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.08.067>
- Chen, S., Huang, T., Ho, C., & Tsai, P. (1998). Extraction, analysis, and study on the volatiles in roselle tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(3), 1101-1105. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf970720y>
- Chin, H., & Lindsay, R. C. (1993). Volatile Sulfur compounds formed in disrupted of different cabbage cultivars. *Journal of Food Science*, 58(4), 835-839. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb09370.x>
- Choi, S. M., Lee D. J., Kim J. Y., & Lim S. T. (2017). Volatile composition and sensory characteristics of onion powders prepared by convective drying. *Food Chemistry*, 231, 386-392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.129>
- Cinar, A., Tugrul Ay, S., Ayas, F., Karabak, S., Guzelsoy, N., & Ucurum, O. (2017). Foxtail lilly (*Eremurus spectabilis* M. Bieb.) as priority species of biodiversity for food and nutrition project of Turkey. *Anadolu*, 27(2), 69-73. DOI: <https://dergipark.org.tr/en/pub/anadolu/issue/34063/376886>
- Dong, L., Piao, Y., Zhang, X., Zhao, C., Hou, Y., & Shi, Z. (2013). Analysis of volatile compounds from a malting process using headspace solid-phase micro-extraction and GC-MS. *Food Research International*, 51(2), 783-789. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.052>
- Duque, C., Bonilla, A., Bautista, E., & Zea, S. (2001). Exudation of low molecular weight compounds (thiobismethane, methyl isocyanide, and methyl isothiocyanate) as a possible chemical defense mechanism in the marine sponge *Ircinia felix*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(5), 459-467. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0305-1978\(00\)00081-8](https://doi.org/10.1016/S0305-1978(00)00081-8)
- Engelberth, J., & Engelberth, M. (2020). Variability in the Capacity to Produce Damage-Induced Aldehyde Green Leaf Volatiles among Different Plant Species Provides Novel Insights into Biosynthetic Diversity. *Plants*, 9(2), 213. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9020213>
- Engels, W. J. M., Dekker, R., Jongb, C. De, Neeter, R., & Visser, S. (1997). A comparative study of volatile compounds in the water-soluble fraction of various types of ripened cheese. *International Dairy Journal*, 7(4), 255-263. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(97\)00003-4](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00003-4)
- Falahi, E., Delshadian, Z., Ahmadvand, H., & Jokar, S. S. (2019). Head space volatile constituents and antioxidant properties of five traditional Iranian wild edible plants grown in west of Iran. *AIMS Agriculture and Food*, 4(4), 1034-1053. DOI: <https://doi.org/10.3934/agrfood.2019.4.1034>
- Fidler, J. C. (1967). The metabolism of acetaldehyde by plant tissues. *Journal of Experimental Botany*, 19(1), 41-51. DOI: <https://doi.org/10.1093/jxb/19.1.41>
- Geddes, J. D., Miller, G. C., & Taylor, G. E. (1995). Gas phase photolysis of methyl isothiocyanate. *Environmental Science and Technology*, 29(10), 2590-2594. DOI: <https://doi.org/10.1021/es00010a020>
- Hadizadeh, H., Bahri, B. A., Qi, P., Wilde, H. D., & Devos, K. M. (2020). Intra- and interspecific diversity analyses in the genus *Eremurus* in Iran using genotyping-by sequencing reveal geographic population structure. *Horticulture Research*, 7, 30. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41438-020-0265-9>
- Jacobsson, A., Nielsen, T., & Sjöholm, I. (2004). Influence of temperature, modified atmosphere packaging, and heat treatment on aroma compounds in broccoli. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1607-1614. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf030631n>
- Kanaani, S., & Sani, A. M. (2015). Chemical composition of essential oils and in vitro antibacterial activity of methanolic extract of *Sonchus arvensis* and *Eremurus spectabilis* against food-borne pathogenic bacteria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(5), 1093-1099. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.989185>
- Karadeniz, A., Çinbilgel, İ., Gün, S.Ş., & Çetin, A. (2015). Antioxidant activity of some Turkish medicinal plants. *Natural Product Research*, 29(24), 2308-2312. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1005618>
- Karakaya, L., Akgül, Y., & Nalbantsoy, A. (2017). Chemical constituents and in vitro biological activities of *Eremurus spectabilis* leaves. *Natural Product Research*, 31(15), 1786-1791. DOI: <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1292268>
- Karaman, K., Polat, B., Ozturk, I., Sagdic, O., & Ozdemir, C. (2011). Volatile Compounds and bioactivity of *Eremurus spectabilis* (Ciris), a Turkish wild edible vegetable. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1238-1243. DOI: <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.0262>
- Karaoğlu, E. S., Albayrak, A., Kutlu, Z., & Bayır, Y. (2018). Gastroprotective and antioxidant effects of *Eremurus spectabilis* Bieb. methanol extract and its isolated component isoorientin on indomethacin induced gastric ulcers in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 33(7), 609-618. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0102-865020180070000006>

- Koca, I., Karadeniz, B., & Tekguler, B. (2016). Aroma components of green körmén (*Allium scorodoprasum* L. spp. *rotundum*) and garlic (*Allium sativum*) plants. *Acta Horticulturae*, 1143, 291-296. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1143.40>
- Le Roux, M., Cronje, J. C., Joubert, E., & Burger, B. V. (2008). Chemical characterization of the constituents of the aroma of honeybush, *Cyclopia genistoides*. *South African Journal of Botany*, 74(1), 139–143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2007.08.006>
- Li, C., Shi, J., Zhang, Y., & Zhang, C. (2000). Constituents of *Eremurus chinensis*. *Journal of Natural Products*, 63(5), 653–656. DOI: <https://doi.org/10.1021/np9904915>
- Liu, S. Q., & Pilone, G. J. (2000). An overview of formation and roles of acetaldehyde in winemaking with emphasis on microbiological implications. *International Journal of Food Science and Technology*, 35 (1), 49–61. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2000.00341.x>
- Mamedov, N., Gardner, Z., & Craker, L. E. (2008). Medicinal plants used in Russia and Central Asia for the treatment of selected skin conditions. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 11(1-2), 191-222. DOI: https://doi.org/10.1300/J044v11n01_07
- Modise, D. M., Wright, C. J., Watson, R., Linforth, R., & Taylor, A. J. (2004). Flavour volatile compound analysis in strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) fruits : comparison of two mass spectrometer techniques for identifying volatile compounds. *South African Journal of Botany*, 70(2), 306–309. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30250-7](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30250-7)
- Pawlik, J. R., Fall, G. M. C., & Zea, S. (2002). Does the odor from sponges of the genus *Ircinia* protect them from fish predators? *Journal of Chemical Ecology*, 28, 1103–1115. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1016221415028>
- Pino, J. A., Marbot, R., & Aguero, J. (2003). Volatile Components of Watermelon (*Citrullus lanatus* [Thunb.] Matsum. et Nakai) Fruit. *Journal of Essential Oil Research*, 15(6), 379-380. DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2003.9698616>
- Pourfarzad, A., Najafi, M. B. H., Khodaparast, M. H. H., Khayyat, M. H., & Malekpour, A. (2014). Fractionation of *Eremurus spectabilis* fructans by ethanol: Box–Behnken design and principal component analysis. *Carbohydrate Polymers*, 106, 374-383. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.048>
- Pourfarzad, A., & Najafi, M. B. H. (2015). Characterization of fructan extracted from *Eremurus spectabilis* tubers : a comparative study on different technical conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5), 2657–2667. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1310-1>
- Pourfarzad, A., Najafi, M. B. H., Khodaparast, M. H. H., & Khayyat, M. H. (2015). Physicochemical properties of serish root (*Eremurus spectabilis*) fructan as affected by drying methods. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 7(5), 687-696. DOI: <https://doi.org/10.3920/QAS2014.0447>
- Shoko, T., Saka, J. D. K., & Apostolides, Z. (2014). Headspace volatiles of the edible fruit pulp of *Parinari curatellifolia* growing in Malawi using solid phase microextraction. *South African Journal of Botany*, 90, 128–130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.11.001>
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158. DOI: <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Swiegers, J. H., & Pretorius, I. S. (2007). Modulation of volatile sulfur compounds by wine yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74, 954–960. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0828-1>
- Tajima, S., & Larue, T. A. (1982). Enzymes for acetaldehyde and ethanol formation in legume nodules. *Plant Physiology*, 70(2), 388-392. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.70.2.388>
- Tosun, M., Ercisli, S., Ozer, H., Turan, M., Polat, T., Ozturk, E., Padem, H., & Kilicgun, H. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of foxtail lily (*Eremurus spectabilis*). *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus*, 11(3), 145-153
- Tural, S., & Koca, I. (2008). Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 362–366. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2008.02.003>
- Tuzcu, Z., Koclar, G., Agca, C. A., Aykutoglu, G., Dervisoglu, G., Tartik, M., Darendilioglu, E., Ozturk, Z., Kaya, B., & Sahin K. (2017). Antioxidant, antimicrobial and anticancer effects of different extracts from wild edible plant *Eremurus spectabilis* leaves and roots. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 10(3), 4787-4797. <https://www.ijcem.com/files/ijcem0042667.pdf>
- Vincenti, S., Mariani M., Alberti J. C., Jacopini, S., de Caraffa, V. B. B., Berti, L., & Maury, J. (2019). Biocatalytic Synthesis of Natural Green Leaf Volatiles Using the Lipxygenase Metabolic Pathway. *Catalysts*, 9(10), 873: 1-35. DOI: <https://doi.org/10.3390/catal9100873>
- Yilmaztekin, M. (2013). International Journal of Food Properties Characterization of potent aroma compounds of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) fruits grown in antalya through the determination of odor activity values. *International Journal of Food Properties*, 17(3), 37–41. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.642446>
- Zannou, O., Kelebek, H., & Selli, S. (2020). Elucidation of key odorants in Beninese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) infusions prepared by hot and cold brewing. *Food Research International*, 133, 109133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109133>
- Zhogolevaa, A., Alas, M., & Rosensvalda, S. (2023). Characterization of odor-active compounds of various pea preparations by GC-MS, GC-O, and their correlation with sensory attributes. *Future Foods*, 100, 100243. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100243>



Alternatif protein kaynağı *Spirulina platensis* ile zenginleştirilen kefirin γ -aminobütirik asit (GABA), karnosin, anserin, 5-hidroksimetilfurfural (HMF) ve indirgen şeker içeriği

γ -aminobutyric acid (GABA), carnosine, anserine, 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and reducing sugar content of kefir fortified with alternative protein source *Spirulina platensis*

Murat Emre TERZİOĞLU^{1*}, Ezgi EDEBALI², İhsan BAKIRCI³

^{1,2,3} Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 25240, Erzurum, Türkiye

¹<https://orcid.org/0000-0001-6370-0694>; ²<https://orcid.org/0000-0001-6912-7569>; ³<https://orcid.org/0000-0002-3744-3863>

To cite this article:

Terzioğlu, M. E, Edebalı, E. & Bakırcı, İ. (2024). Alternatif protein kaynağı *Spirulina platensis* ile zenginleştirilen kefirin γ -aminobütirik asit (GABA), karnosin, anserin, 5-hidroksimetilfurfural (HMF) ve indirgen şeker içeriği. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 118-130
DOI: 10.29050/harranziraat.1401399

***Address for Correspondence:**
Murat Emre TERZİOĞLU
e-mail:
murat.terzioglu@atauni.edu.tr

Received Date:

06.12.2023

Accepted Date:

16.02.2024

Öz

Hayvansal üretim faaliyetleri esnasında oluşan atıkların, çevre kirliliğine neden olması ve küresel ısınmanın bir nedeni olarak gösterilen sera gazı emisyon oranını arttırması başta *Spirulina platensis* olmak üzere protein açısından zengin mikroalg kaynaklarını gündeme getirmiştir. Daha az enerji kullanılarak, uygun maliyetle sürdürülebilir yetiştirme imkanlarına sahip olan *S. platensis* yüksek protein içeriğinin yanı sıra çevre dostu kimliğiyle dikkatleri üzerine çekmiştir. Mevcut çalışmada içerdiği probiyotik mikroorganizmalar neticesinde fonksiyonel gıda olarak nitelendirilen kefire farklı oranlarda (%0.5, %1 ve %1.5) *S. platensis* ilave edilmiş ve örneklerde nörotransmitter madde olarak nitelendirilen γ -aminobütirik asit (GABA) içeriğinin yanı sıra nörolojik hastalıkların ve dokularda biriken oksidatif stresin önlenmesinde önemli bir rol oynayan karnosin ve anserin dipeptitlerinin içeriği belirlenmiştir. Ayrıca kefir örneklerinde indirgen şeker ve Maillard reaksiyon ürünü olan 5-hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu incelenerek *S. platensis* ilavesinin etkisi ortaya konmuştur. Bu bağlamda, kefir örneklerine *S. platensis* ilavesinin istatistiksel olarak GABA, karnosin ve HMF değerleri üzerinde çok önemli ($p < 0.01$) ve indirgen şeker üzerinde önemli ($p < 0.05$) etkiye sahip olduğu, anserin üzerinde ise önemli bir etkisinin olmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir. Kontrol grubu kefir örneklerinde GABA içeriğinin $544.52 \text{ nmol mL}^{-1}$ olduğu belirlenirken, *S. platensis* ilavesiyle artarak $1310.62\text{-}2055.12 \text{ nmol mL}^{-1}$ arasında değiştiği saptanmıştır. Benzer şekilde karnosin ve anserin içeriklerinin de *S. platensis* ilavesiyle artarak, sırasıyla $10.51\text{-}16.01 \text{ nmol mL}^{-1}$ ve $12.41\text{-}17.38 \text{ nmol mL}^{-1}$ arasında değiştiği belirlenmiştir. Kefir örneklerinde saptanan HMF içeriği *S. platensis* ilavesiyle artmış olmasına rağmen, tüketilebilir limitler içerisinde yer aldığı ortaya konmuştur. Sonuç olarak, *S. platensis* ilaveli kefir örneklerinin GABA, karnosin ve anserin kaynağı ve fonksiyonel bir ürün olarak tüketimi tavsiye edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Spirulina platensis*, kefir, γ -aminobütirik asit (GABA), karnosin, anserin, 5-hidroksimetilfurfural (HMF)

ABSTRACT

The fact that the wastes generated during animal production activities cause environmental pollution and increase the rate of greenhouse gas emissions, which is shown as a cause of global warming, has brought protein-rich microalgae resources, especially *Spirulina platensis*, to the agenda. *S. platensis*, which has sustainable cultivation opportunities with less energy and affordable cost, has attracted attention with its high protein content as well as its environmentally friendly identity. In the present study, *S. platensis* was added at different ratios (0.5%, 1% and 1.5%) to kefir, which is characterized



as a functional food due to the probiotic microorganisms it contains, and the content of γ -aminobutyric acid (GABA), which is characterized as a neurotransmitter substance, as well as carnosine and anserine dipeptides, which play an important role in the prevention of neurological diseases and oxidative stress accumulated in tissues, were determined in the samples. In addition, the effect of *S. platensis* addition was revealed by analyzing the formation of reducing sugar and Maillard reaction product 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in kefir samples. In this context, it was determined that the addition of *S. platensis* to kefir samples statistically had a very significant effect on GABA, carnosine and HMF values ($p<0.01$) and a significant effect on reducing sugar ($p<0.05$), while it had no significant effect on anserine ($p>0.05$). While the GABA content was $544.52 \text{ nmol mL}^{-1}$ in the control group kefir samples, it increased with the addition of *S. platensis* and ranged between 1310.62 - $2055.12 \text{ nmol mL}^{-1}$. Similarly, carnosine and anserine contents increased with the addition of *S. platensis* and ranged between 10.51 - $16.01 \text{ nmol mL}^{-1}$ and 12.41 - $17.38 \text{ nmol mL}^{-1}$, respectively. Although HMF content in kefir samples increased with the addition of *S. platensis*, it was found to be within the consumable limits. In conclusion, kefir samples with *S. platensis* addition are recommended to be consumed as a source of GABA, carnosine and anserine and as a functional product.

Key Words: *Spirulina platensis*, kefir, γ -aminobutyric acid (GABA), carnosine, anserine, 5-hydroxymethylfurfural (HMF)

Giriş

Kökeni Kuzey Kafkasya'ya dayanan kefir, starter kültür veya dane ilave edilerek sütün fermantasyona uğratılması sonucu elde edilen ve hafif ekşimsi bir tada sahip olan fermente süt ürünüdür (Arslan, 2015; Rosa ve ark., 2017). Bünyesinde barındırdığı mikroorganizmalar sayesinde doğal probiyotik bir süt ürünü olan kefirin, insan sağlığı üzerinde çeşitli nutrasötik ve terapötik etkileri bulunmaktadır (Hutkins, 2006). Kefir günlük diyetle dahil edildiğinde vücutta sindirim sistemini düzenlemekte, bağırsak mikroflorasını olumlu yönde etkilemekte, kanserli hücre oluşumunun önüne geçmekte, kalp-damar hastalıklarını önlemekte ve kan şekerini dengelemektedir (Rosa ve ark., 2017). Diğer taraftan sağlık üzerinde pek çok yararı bulunmasına rağmen, protein kalitesi ve biyolojik değeri bakımından et (protein verimlilik oranı 2.9 g g^{-1}) ve yumurta (protein verimlilik oranı 3.9 g g^{-1}) gibi diğer hayvansal kaynaklı gıdalara kıyasla kefirin (protein verimlilik oranı 0.84 g g^{-1}) nispeten fakir bir gıda olması, bu eksikliği iyileştirmeyi zorunlu kılmaktadır (Urdaneta ve ark., 2007; Pellegrino ve ark., 2013; Aktaş, 2022).

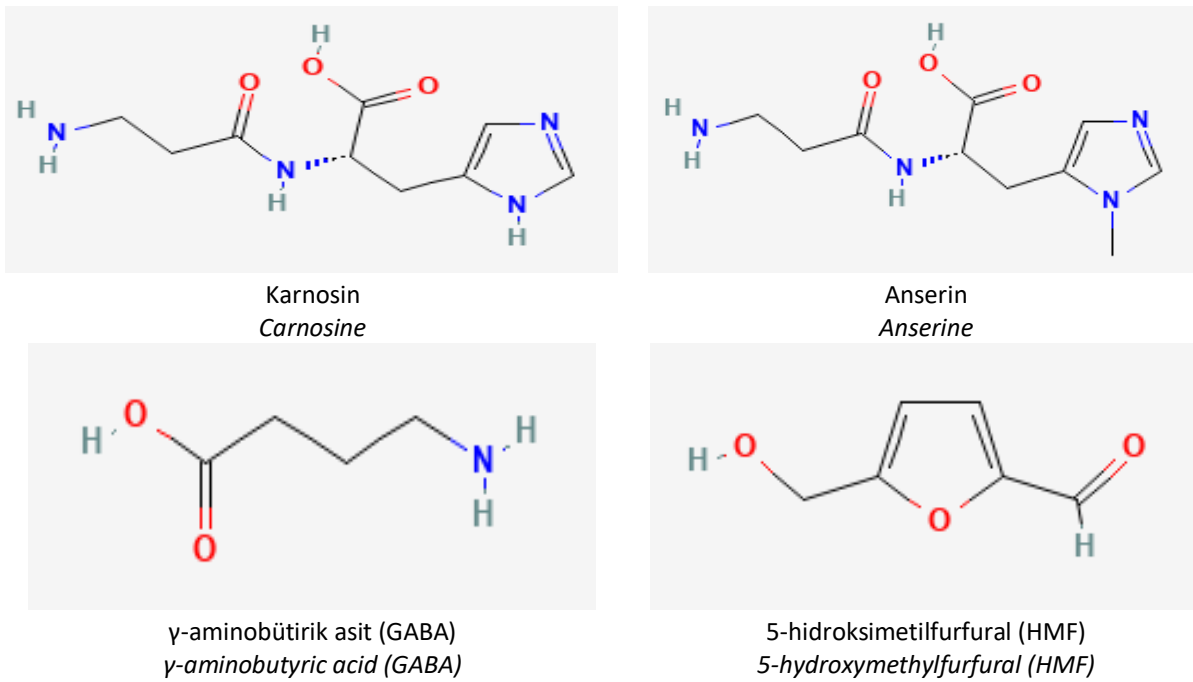
Gıda matrisindeki kompleks makro moleküllerden biri olan proteinler, amino asitlerin peptit bağları ile birbirine bağlanması sonucu oluşan uzun zincirli polimerlerdir (Bilişli, 2019; Yetim ve Tekiner, 2020). Proteinler vücutta başta yapım, onarım, büyüme ve gelişme olmak üzere pek çok metabolik işleve sahip bileşiklerdir. Bu nedenle, otoriteler bir kişinin günlük diyetle 1 kg

vücut ağırlığı başına 0.8 g protein almasını tavsiye etmektedir. Diğer taraftan, günlük diyetle alınacak protein miktarının en az %45'inin yüksek biyoyararlılığa sahip hayvansal kaynaklı proteinlerden oluşması gerektiği vurgulanmaktadır (Recommended Dietary Allowance (RDA), 2005). Peptitler, amino asitlerin peptit bağları aracılığıyla birbirlerine bağlanarak oluşturduğu kısa zincirli polimerler olarak tanımlanmaktadır. Peptitlerin bünyesinde yer alan amino asitler, amino asit kalıntısı olarak adlandırılmakta olup, zincir uçlarında bulunan serbest α -amino ve α -karboksil grubuna sahip amino asit kalıntılarına sırasıyla amino terminal (N-terminali) ve karboksil terminal (C-terminali) adı verilmektedir. Peptit ve proteinlerin temel yapı taşları olan ve hücrelerde gerçekleşen kimyasal reaksiyonların birçoğunu katalizleyen amino asitler α -karbon atomuna bağlı bir amino grubu ($-\text{NH}_2$), bir karboksil grubu ($-\text{COOH}$), bir hidrojen atomu (H) ve radikal gruptan (R) oluşmaktadır (Saldamlı ve Temiz, 2017; Hamzaoğlu, 2023). Doğada ortalama 300 adet amino asit bulunmakta olup, bu amino asitler arasından sadece 20 tanesi proteinlerin yapısına katılmaktadır (Bilişli, 2019). Protein yapısında yer almayan amino asitler sınıfına dahil edilen γ -aminobütirik asit (GABA, $\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}_2$), L-glutamatın, glutamik asit dekarboksilaz enzimiyle parçalanması sonucu oluşmakta ve özellikle memeli canlılardaki en önemli nörotransmitter inhibitörlerden biri olarak kabul edilmektedir (Diana ve ark., 2014; Das ve Goyal, 2015). GABA, merkezi sinir sisteminde sinaptik iletimi modüle etmede, nöronal gelişimi ve gevşemeyi desteklemede, uykusuzluk ve

depresyon problemini önlemede önemli bir rol oynamaktadır (Nuss, 2015; Knoflach ve ark., 2018). Ayrıca vücutta antihipertansif, antikanser, antioksidan, antiinflamatuvar, antialerjik, antimikrobiyal ve antidiyabetik etkiler sergileyen GABA, böbrek ve bağırsak fonksiyonları üzerinde de koruyucu etkilere sahiptir (Ngo ve Vo, 2019). Karnosin ($C_9H_{14}N_4O_3$), β -alanin ve L-histidinden oluşan bir dipeptit olarak tanımlanmaktadır (Cesak ve ark., 2023). Vücutta özellikle beyin ve kas dokularında bulunan karnosin, reaktif oksijen ve nitrojen türleri ile hücresel düzeyde reaksiyona girerek biyomoleküllerin hasara uğramasını engellemektedir (Haus ve Thyfault, 2018). Ayrıca ileri glikasyon ve lipit peroksidasyon son ürünlerinin oluşumunu azaltan karnosin, protonlarla doğrudan reaksiyona girerek pH dengesini korumakta ve yoğun kas aktivitesinin neden olduğu yorgunluk hissini önemli düzeyde düşürmektedir (Dolan ve ark., 2018; Aldini ve ark., 2021). Anserin ($C_{10}H_{16}N_4O_3$) ise β -alanin ve 3-metilhistidinden oluşan, karnosin türevi bir dipeptittir (Yeum ve ark., 2010). Vücutta beyin ve kas dokularında bulunan anserin, Alzheimer hastalığının ve nörovasküler fonksiyon bozukluklarının tedavisinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Kaneko ve ark., 2017; Everaert ve ark., 2019). Bununla birlikte, anserin egzersiz kaynaklı hücre hasarını önlemekte ve kas dokularında biriken oksidatif stresin azaltılmasına yardımcı olmaktadır (Alkhatip ve ark., 2020). Karnosinaz aktivitesini inhibe edebilen anserin bu sayede karnosinin etkinlik düzeyini de olumlu yönde desteklemektedir (Derave ve ark., 2019). Günlük diyetle karnosin ve anserinin birlikte kullanımı ise epizodik hafızayı güçlendirmekte ve

bilişsel bozuklukları önlemektedir (Hisatsune ve ark., 2016; Ding ve ark., 2018; Masuoka ve ark., 2019).

Halihazırda piyasaya sunulan protein kaynaklarının yüksek maliyetli olması ve artan nüfusun taleplerine karşılık verememesinin yanı sıra hayvansal üretim faaliyetlerinin çevre kirliliğine yol açması ve sera gazı emisyon oranını arttırarak iklim değişikliğinde önemli bir paya sahip olması nedeniyle farklı protein kaynaklarına yönelim artmıştır. Günümüzde dünya nüfusunun protein ihtiyacının karşılanmasında doğal, çevre dostu, uygun maliyetli ve sürdürülebilir özelliğe sahip *S. platensis* gibi farklı mikro alg türleri tüketime uygun hale getirilerek potansiyel protein kaynakları arasında gösterilmektedir (Hocquette ve ark., 2015; Zhang ve ark., 2021). Ayrıca karbonhidrat içeriği de kısmen yüksek olan *S. platensis* gıdalarla birlikte tüketildiğinde sağlık açısından antimutajenik, antikarsinojenik, antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal özellikler sergilemektedir (Zepka ve ark., 2019). Gıdaların protein ve/veya karbonhidrat içeriğinin yüksek olması, beslenme ve sağlık açısından bazı avantajlar sağladığı gibi bazı dezavantajları da beraberinde getirebilmektedir. Üretim esnasında mikrobiyal kontaminasyon riskinin en aza indirilmesi ve muhafaza süresinin uzatılması amacıyla gıdalara uygulanan ısıtma işlemi, fermantasyon ve depolama süresinde amino grubu ve indirgen şekerler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarında şekerlerin termal bozunma ürünü olan 5-hidroksimetilfurfural (HMF) oluşumu gözlenebilmektedir (Li ve ark., 2019; Farag ve ark., 2020). Şekil 1’de karnosin, anserin, GABA ve HMF’nin kimyasal yapısı verilmiştir.



Şekil 1. GABA, karnosin, anserin ve HMF'nin kimyasal yapısı
Figure 1. Chemical structure of GABA, carnosine, anserine and HMF

Literatürde Cui ve ark. (2020) pastörize süt, UHT süt, süt tozu, fermente süt, rekonstitüe süt ve rekonstitüe yoğurt örneklerinde; Czerwonka ve ark. (2020) mikro filtrelenmiş süt, UHT süt, pastörize süt ve sütü tozu örneklerinde; Xing ve ark. (2021) ise UHT süt ve pastörize yoğurt örneklerinde HMF içeriğini araştırmışlardır. Bununla birlikte, Siragusa ve ark. (2007) peynir örneklerinde; Renes ve ark. (2019) koyun sütünden üretilen olgunlaşmış peynir örneklerinde ve Galli ve ark. (2022) ise fermente süt örneklerinde GABA içeriğini incelemişlerdir. Bu bağlamda, literatürdeki çalışmalar incelendiğinde *S. platensis* ilave edilen kefirlerde fonksiyonel gıda olma özelliğini niteleyen GABA, karnosin ve anserin içeriklerinin yanı sıra ısıtma işlemi toksikantları arasında yer alan ve süte uygulanan ısıtma işleminin kalitesini niteleyen HMF ile HMF oluşumunda etkili olan indirgen şeker içeriğinin araştırıldığı başka bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Böylece, sağlık açısından oldukça olumlu katkılar sağlayan kefirin *S. platensis* ile zenginleştirilmesinin bahsi geçen bileşenler üzerindeki etkisi detaylıca ele alınmıştır. Bu amaç doğrultusunda, kefir örneklerine sırasıyla %0.5, %1 ve %1.5 oranında *S. platensis* ilave edilmiş ve GABA, karnosin, anserin, HMF ve indirgen şeker içerikleri kromatografik (LC-MS/MS) ve spektrofotometrik yöntemler kullanılarak belirlenmiştir.

Materyal ve Metot

Materyal

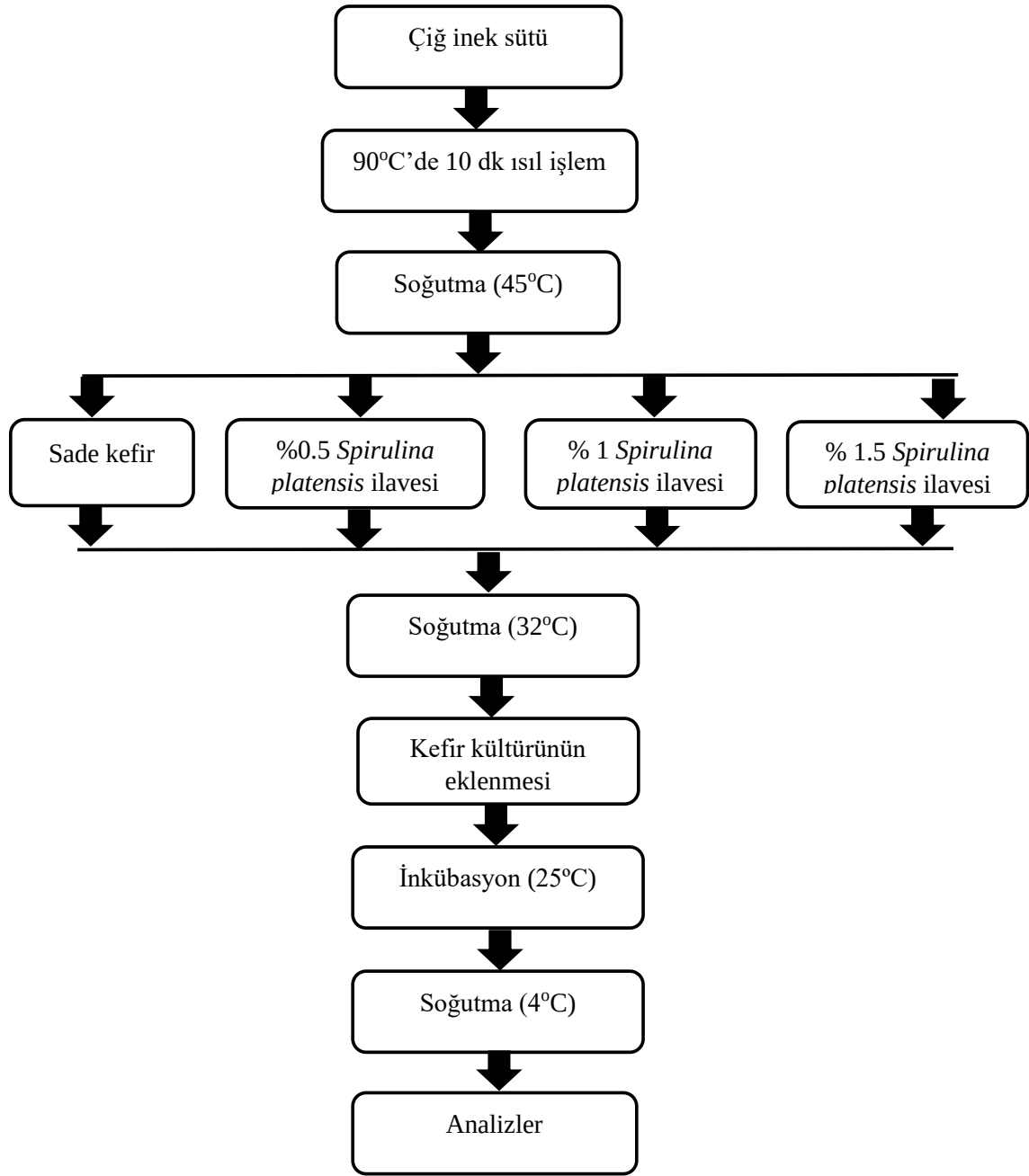
Kefir üretiminde kullanılan inek sütü Erzurum yerel üreticilerinden, *S. platensis* Naturiga Natural Foods (İstanbul, Türkiye) firmasından ve ticari kefir kültürü (*Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*) ise VİVO Gıda Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi (İstanbul, Türkiye)'den temin edilmiştir.

Metot

Kefir üretimi

Kefir üretiminde hammadde olarak kullanılan çiğ inek sütü, 90 °C'de 10 dk süreyle pastörize edilerek 45 °C'ye soğutulmuştur. Ardından %0.5, %1 ve %1.5 oranlarında *S. platensis* ilave edilip 32 °C'ye soğutulan örnekler DVS (Direct Vat Inoculation) esasına göre ticari kefir kültürü ilave edilmiştir. İnokülasyon aşamasından sonra kefir örnekleri, 25 °C'de pH 4.6 oluncaya kadar inkübe edilmiştir. İnkübyasyon işlemi tamamlandıktan sonra kefir örneklerinde oluşan pıhtı kırılmış ve akabinde örnekler 4 °C'de depolanmıştır. Kefir

üretimin ait akış şeması Şekil 2’de detaylı olarak verilmiştir.



Şekil 2. Kefir örneklerine ait üretim akış şeması
Figure 2. Production flow chart of kefir samples



Şekil 3. Kefir örnekleri (K: Sade kefir; KS-0.5: %0.5 oranında *S. platensis* ilaveli kefir; KS-1: %1 oranında *S. platensis* ilaveli kefir; KS-1.5: %1.5 oranında *S. platensis* ilaveli kefir)

Figure 3. Kefir samples (K: Plain kefir; KS-0.5: Kefir with 0.5% *S. platensis*; KS-1: Kefir with 1% *S. platensis*; KS-1.5: Kefir with 1.5% *S. platensis*)

5-hidroksimetilfurfural (HMF)

Kefir örneklerinin HMF içeriğinin belirlenmesinde, 5 mL kefir örneği üzerine 5 mL oksalik asit ilave edilip 1 saat boyunca su banyosunda bekletilerek oda sıcaklığına soğutulmuştur. Ardından elde edilen karışım filtre edildikten sonra süzüntüden 4 mL alınmış ve üzerine 1 mL 0.05 M tiyobarbitürik asit çözeltisi eklenerek tekrar su banyosunda bekletilmiştir. Daha sonra spektrofotometrede (Optizen, Optizen POP, Güney Kore) 443 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır (Terzioğlu ve ark., 2023).

İndirgen şeker

Kefir örneklerinin dinitrosalisilik asit çözeltisi (DNS) yöntemine göre indirgen şeker içeriğinin belirlenmesinde, 5'er mL Carrez I (potasyum hekzasiyanoferat (II), %15) ve Carrez II (çinko sülfat heptahidrat, %30) çözeltileri kefir örneklerine ilave edilerek süzölmüş ve elde edilen süzöntü aktif kömürle 100 mL'ye tamamlanmıştır. Karışım karanlıkta 1 saat süreyle bekletildikten sonra yeniden süzülerek 2 mL süzöntü elde edilmiş

ve 6 mL DNS çözeltisiyle 5 dk süreyle ısıtılarak spektrofotometrede (Optizen, Optizen POP, Güney Kore) 540 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır (Bakirci ve ark., 2023).

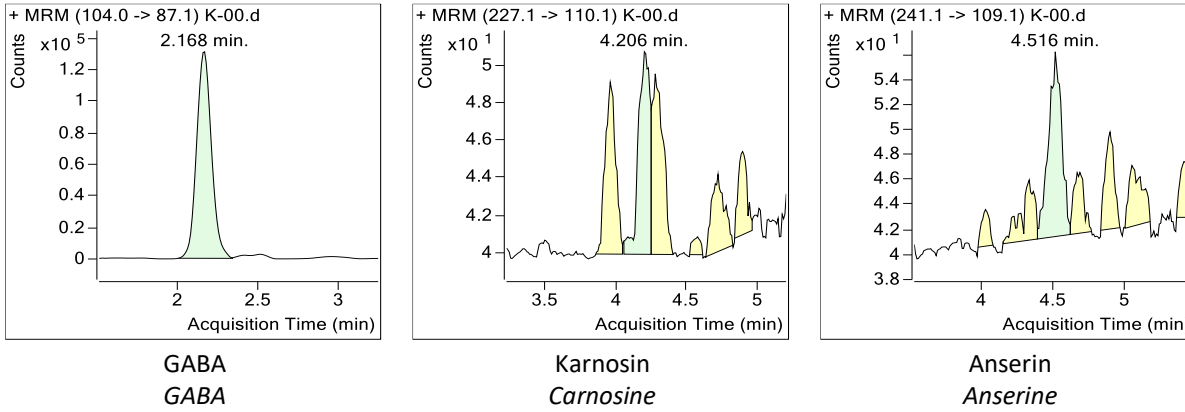
γ-aminobütirik asit (GABA), karnosin ve anserin içerikleri

Kefir örneklerinin GABA, karnosin ve anserin içerikleri belirlenirken Sıvı Kromatografi Tandem Kütle/Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) analizi için JASEM amino asit kiti kullanılmış olup, mobil faz akışında ise (0.7 mL dk⁻¹) gradient akış kullanılmıştır. Analizde kullanılan standartlar, internal standart, mobil faz ve kolon JASEM Laboratory Systems and Solutions tarafından temin edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda ekstraksiyon işleminde 100 µL örnek, 50 µL internal standart ve 650 µL amino asit solvent (Mobil Faz A, Mobil Faz B, v:v, 1:4) karıştırılmış ve santrifüj edilmiştir. Daha sonra LC-MS/MS (Agilent 6460 Triple Quadropol, ABD)'te analiz edilmiştir (Atila ve ark., 2021). LC-MS/MS kütle şartları Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. LC-MS/MS Kütle Şartları
Table 1. LC-MS/MS Mass Conditions

Parametreler <i>Parameters</i>	(+) Değerler <i>(+) Values</i>	(-) Değerler <i>(-) Values</i>
Gaz sıcaklığı	150	150
Gaz akışı (L dk ⁻¹)	11	11
Nebulizer (psi)	40	40
Sheath gaz sıcaklığı	375	375
Sheath gaz akışı	11	11
Kapiler voltajı	2000	0
Enjeksiyon hacmi (µL)	1	
İyonlaşma gücü	AJS ESI	
İyonlaşma modu	Pozitif	

GABA, karnosin ve anserin bileşiklerinin standartlarına ait LC-MS/MS kromatogramları Şekil 4'te verilmiştir.



Şekil 4. GABA, karnosin ve anserin standartlarına ait LC-MS/MS kromatogramları
Figure 4. LC-MS/MS chromatograms of GABA, carnosine and anserine standards

İstatistiksel analiz

Kontrol grubuyla birlikte 3 farklı oranda (%0.5, %1 ve %1.5) *S. platensis* ilave edilen kefir örneklerine ait analizler 2 tekerrür olacak şekilde faktöriyel düzenlemede Tam Şansa Bağlı Bloklar Deneme Planına göre yürütülmüş ve veriler IBM® SPSS® Statistics Version 20.0 paket programında varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak yorumlanmıştır.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Kefir örneklerinin HMF ve indirgen şeker içeriği sonuçları

Kefir örneklerinin HMF ve indirgen şeker içeriği

sonuçları Çizelge 2’de verilmiştir. Kefir örneklerine *S. platensis* ilavesinin HMF oluşumu üzerinde istatistiksel olarak çok önemli ($p < 0.01$) etkiye sahip olduğu görülürken, indirgen şeker içeriği üzerinde ise önemli ($p < 0.05$) etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ilave edilen *S. platensis* oranına bağlı olarak kefir örneklerinde HMF ve indirgen şeker içeriğinin arttığı saptanmıştır. Nitekim analiz sonuçlarına göre en yüksek HMF ($45.50 \mu\text{mol L}^{-1}$) ve indirgen şeker içeriği (%3.66) %1.5 oranında *S. platensis* ilave edilen kefir örneğinde, en düşük HMF ($18.15 \mu\text{mol L}^{-1}$) ve indirgen şeker içeriği (%3.66) ise *S. platensis* ilavesi yapılmayan kontrol grubu kefir örneğinde tespit edilmiştir.

Çizelge 2. Kefir örneklerinin HMF ve indirgen şeker içerikleri
Table 2. HMF and reducing sugar contents of kefir samples

Kefir Örnekleri Kefir Samples	HMF ($\mu\text{mol L}^{-1}$) HMF ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	İndirgen Şeker (%) Reducing Sugar (%)
K	18.15±1.70 ^c	2.34±1.17 ^c
KS-0.5	35.91±0.53 ^b	2.90±0.09 ^b
KS-1	38.62±1.60 ^b	3.18±0.24 ^{ba}
KS-1.5	45.50±0.48 ^a	3.66±0.23 ^a
Sign.	**	*

a-c: sütunlar arasındaki farklılıkları gösterir; **: p<0.01; *: p<0.05; K: Sade kefir; KS-0.5: %0.5 oranında *S. platensis* ilaveli kefir; KS-1: %1 oranında *S. platensis* ilaveli kefir; KS-1.5: %1.5 oranında *S. platensis* ilaveli kefir

a-c: Different letters indicate significant differences in column; **: p<0.01; *: p<0.05; K: Plain kefir; KS-0.5: Kefir with 0.5% *S. platensis*; KS-1: Kefir with 1% *S. platensis*; KS-1.5: Kefir with 1.5% *S. platensis*

Amino grubu ve indirgen şekerler arasında meydana gelen Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarında oluşan HMF, furfurallar grubuna ait bir bileşiktir. Glikoz, fruktoz, laktoz ve maltoz indirgen şeker olarak nitelendirilmekte olup, HMF oluşumunda oldukça önemli bir etkiye sahiptir (Bakirci ve ark., 2023). Maillard reaksiyonunun gerçekleşmesi için indirgen şeker ve amino asitler gerekli substratlar olup, dolayısıyla kefir gibi süt ürünlerinde indirgen şeker içeriğinin artışının furfural bileşiklerinin oluşumuna katkı sağladığı rapor edilmiştir (Xing ve ark., 2021). Nitekim mevcut araştırma sonuçlarından da görüldüğü üzere kefir örneklerine ait HMF değerlerinin, indirgen şeker içeriği sonuçlarıyla paralel bir şekilde artış gösterdiği saptanmıştır. Cui ve ark. (2020) kırmızı hünnap aromalı rekonstitüe yoğurt örneğinde HMF içeriğini 3.430 mg kg⁻¹ olarak tespit ederlerken, fermente süt örneğinde 0.167 mg kg⁻¹ olarak saptamışlardır. Er Demirhan ve ark. (2015) devam sütü örneklerinde HMF içeriğini ortalama 237.85 $\mu\text{g 100 mL}^{-1}$ olarak tespit ederlerken, Terzioğlu ve Bakirci (2023) manda yoğurdunda 16.33 $\mu\text{mol L}^{-1}$, keçi yoğurdunda 21.59 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ve koyun yoğurdunda ise 17.81 $\mu\text{mol L}^{-1}$ olarak saptamışlardır.

Sütün karbonhidrat bileşiminin de Maillard reaksiyonu üzerinde etkili olduğu ve monosakkaritlerin indirgen disakkaritlere kıyasla reaksiyona daha kolay girebildiği bildirilmektedir (Özdal ve ark., 2018). Ayrıca heksozların asidik ortamda sıcaklığa maruz kalmasıyla da oluşabilen HMF içeriğinin, sütün laktoz ve glikoz içeriğinin yanı sıra, süt ürünlerinin üretimi esnasında uygulanan ısı işlem koşullarına, fermentasyon

sürecine ve ürüne ilave edilen katkıların protein ve şeker içeriğine bağlı olarak değişebileceği bildirilmiştir (Cui ve ark., 2020; Xing ve ark., 2020; Li ve ark., 2022; Terzioğlu ve ark., 2023). Nitekim, literatürde yapılan çalışmalarda *S. platensis*'in zengin bir protein içeriğine (%55-70) sahip olduğu ortaya konmuştur (Belay, 1997; Gün, 2019; Özbal, 2020). Ayrıca Mercan (2022), *S. platensis*'in karbonhidrat içeriğinin %13.5-15 arasında değiştiğini ve karbonhidrat içeriğinin başlıca glikoz, ramnoz, mannoz, galaktoz ve ksilozdan oluştuğunu rapor etmiştir. Bu araştırmada, *S. platensis* ilaveli kefirlerde sade kefirlerle kıyasla indirgen şeker içeriğinin ve buna bağlı olarak HMF içeriğinin artması *S. platensis*'in karbonhidrat ve protein içeriğiyle ilişkilendirilmiştir.

Süt ürünlerinde HMF içeriğinin belirlenmesinin sağlık açısından önemli bir kalite parametresi olduğu ve HMF'nin genotoksik, sitotoksik ve tümöral özellikler sergilemesi nedeniyle belirli düzeylerde vücuda alındığında sağlık açısından risk teşkil edebileceği bildirilmiştir (Czerwonka ve ark., 2020; Van den Oever ve Mayer, 2021; Li ve ark., 2022). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) yayınladığı raporunda süt ürünlerinde bulunabilecek maksimum HMF miktarının 15 mg kg⁻¹ olduğunu bildirmiştir (Hou ve ark., 2022). Mevcut çalışmada ise kefir örneklerinin HMF miktarlarının, EFSA tarafından bildirilen bu sınırın altında olduğu ortaya konmuştur.

Kefir örneklerinin GABA, karnosin ve anserin içerikleri

Kefir örneklerinin GABA, karnosin ve anserin içeriği sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. Kefir örneklerine *S. platensis* ilavesinin istatistiksel

olarak GABA ve karnosin içerikleri üzerinde çok önemli ($p<0.01$) etkiye sahip olduğu, anserin üzerinde ise önemli bir etkisinin olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Kefir örneklerine ilave edilen *S. platensis* oranına bağlı olarak GABA ve karnosin içeriğinin arttığı, anserin içeriğinin ise düzenli bir artış göstermediği saptanmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre kefir örnekleri arasında en yüksek GABA içeriği ($2055.12 \text{ nmol mL}^{-1}$) ve karnosin

içeriği ($16.01 \text{ nmol mL}^{-1}$) %1.5 oranında *S. platensis* ilave edilen kefir örneğinde, en yüksek anserin içeriği ($17.38 \text{ nmol mL}^{-1}$) ise %1 oranında *S. platensis* ilave edilen kefir örneğinde tespit edilmiştir. En düşük GABA içeriği ($544.52 \text{ nmol mL}^{-1}$), karnosin içeriği ($8.03 \text{ nmol mL}^{-1}$) ve anserin içeriği ($12.21 \text{ nmol mL}^{-1}$) ise *S. platensis* ilavesi yapılmayan kontrol grubu kefir örneğinde tespit edilmiştir.

Çizelge 3. Kefir örneklerinin GABA, karnosin ve anserin içerikleri
Table 3. GABA, carnosine and anserine contents of kefir samples

	GABA (nmol mL^{-1}) GABA (nmol mL^{-1})	Karnosin (nmol mL^{-1}) Carnosine (nmol mL^{-1})	Anserin (nmol mL^{-1}) Anserine (nmol mL^{-1})
Kefir Örnekleri Kefir Samples			
K	544.52±4.51 ^d	8.03±0.84 ^b	12.21±0.33 ^b
KS-0.5	1310.62±5.69 ^c	10.51±0.51 ^b	12.41±0.78 ^b
KS-1	1709.42±40.77 ^b	15.32±1.63 ^a	17.38±0.37 ^a
KS-1.5	2055.12±5.37 ^a	16.01±0.12 ^a	16.78±3.32 ^{ba}
Sign.	**	**	ns

a-d: sütunlar arasındaki farklılıkları gösterir; **: $p<0.01$; ns: not significant; K: Sade kefir; KS-0.5: %0.5 oranında *S. platensis* ilaveli kefir; KS-1: %1 oranında *S. platensis* ilaveli kefir; KS-1.5: %1.5 oranında *S. platensis* ilaveli kefir

a-d: Different letters indicate significant differences in column; **: $p<0.01$; ns: not significant; K: Plain kefir; KS-0.5: Kefir with 0.5% *S. platensis*; KS-1: Kefir with 1% *S. platensis*; KS-1.5: Kefir with 1.5% *S. platensis*

GABA, dört karbon atomuna sahip protein olmayan bir amino asit olarak nitelendirilmekte olup, sentezi L-glutamik asit veya tuzlarından glutamik asit dekarboksilaz enzimi ve kofaktör piridoksal-5-fosfat tarafından gerçekleşmektedir (Sahab ve ark., 2020). Laktik asit bakterileri ve mayalar GABA üretebilme yeteneklerine sahiptir ve ticari olarak GABA üretiminde kullanılmaktadır (Diana ve ark., 2014; Oketch-Rabah ve ark., 2021). *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Lactobacillus brevis*, *Lactocaseibacillus paracasei* ve *Lactiplantibacillus plantarum* gibi çeşitli laktik asit bakterileri glutamik asit dekarboksilaz enzimi aktivitesine sahip olmaları nedeniyle GABA üretimi için sıklıkla tercih edilmektedir (Sahab ve ark., 2020). Bununla birlikte süt ve süt ürünlerinde, kazeinin zengin glutamik asit kaynağı olması nedeniyle GABA'nın doğal olarak bulunduğu ifade edilmektedir (Yılmaz-Ersan ve ark., 2022). Ayrıca laktik asit fermentasyonu ile üretilen gıdalar GABA açısından doğal kaynaklar arasında gösterilmekte ve bu gıdaların tüketimi ile düzenli bir şekilde vücuda yüksek miktarda GABA'nın alınabileceği

bildirilmektedir (Diana ve ark., 2014).

Gharehyakheh (2021) koyun sütü ve kiraz meyvesi kullanarak ürettiği kefir örneklerine *Lactobacillus sp. Makhdzir Naser-1* (GQ451633) ilavesi yaparak GABA içeriğini incelemiştir. Optimum koşullar altında kefir örneklerinde ortalama GABA üretimini 3.818 mg mL^{-1} olarak belirlemiştir. Ayrıca kiraz meyvesinin bileşiminde bulunan glikoz ve fruktoz oranının GABA üretimini arttırdığını ifade etmiştir. Mevcut çalışmada da indirgen şeker miktarı ile GABA içeriğinin paralel şekilde arttığı tespit edilmiştir. Hussin ve ark. (2021) basit şeker ve *Lactiplantibacillus plantarum* Taj-Apis 362 kullanarak ürettikleri yoğurt örneklerinde GABA içeriğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda glikoz ilaveli yoğurt örneklerinin en yüksek probiyotik bakteri sayısına ($9.31 \log \text{ kob g}^{-1}$) ve GABA içeriğine ($58.56 \text{ mg } 100^{-1}$) sahip olduğunu belirlemişlerdir. Inoue ve ark. (2003) hafif hipertansiyonu olan hastalara GABA içeren fermente süt ürününün 12 hafta boyunca her gün 100 mL verilmesinin hastalarda kan basıncını düşürme potansiyeline sahip olduğu bildirmişlerdir. Nejati ve ark. (2013) farklı laktik asit

bakterileri kullanarak ürettikleri fermente sütlerde GABA içeriklerinin 10.1-77.4 mg kg⁻¹ arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Araştırmacılar fermente sütlerin GABA içeriklerindeki farklılıkları suşların GABA sentezleme kapasitelerinin farklı olmasıyla ve sütün asidifikasyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Khanlari ve ark. (2021) ürettikleri fermente süt örneklerinde GABA içeriğinin fermentasyon işlemiyle 18 mg L⁻¹'den 136 mg L⁻¹'ye kadar yükseldiğini saptamışlardır. Araştırmacılar fermente ürünlerde GABA içeriğinin bileşim, sıcaklık, pH, inkübasyon süresi, GABA prekürsörlerinin bulunması ve mikroorganizma inokülasyon oranı gibi çeşitli faktörlerden etkilendiğini bildirmişlerdir. Yılmaz-Ersan ve ark. (2022) kestane sütü ile zenginleştirdikleri yoğurt örneklerinde kestanenin GABA içeriğinin yüksek olması nedeniyle yoğurt örneklerinde GABA içeriğinin arttığını rapor etmişlerdir. Mevcut araştırmada ise kefir örneklerindeki *S. platensis* ilavesiyle GABA içeriğinin artmasında *S. platensis*'in baskın amino asitleri arasında glutamik asidin (8.47 g 100 g⁻¹) yer almasının etkili olduğu düşünülmektedir (Bashir ve ark., 2016). Garbowska ve ark. (2020) farklı *Lactobacillus* suşlarıyla ürettikleri peynir örneklerinde olgunlaşma periyodu boyunca anserin ve karnosin miktarlarındaki artışları incelemişlerdir. Araştırmacılar laktik asit bakterinin faaliyetleri sonucunda tüm peynir örneklerinde anserin ve karnosin peptitlerini tespit etmişlerdir. Bartkiene ve ark. (2023) *Spirulina*'nın fermente edilen ve fermente edilmeyen suşlarındaki GABA miktarlarını incelemişlerdir. Fermente edilen *Spirulina*'yı GABA üretebilen *Lactiplantibacillus plantarum* No. 122 suşu ile fermentasyon işlemine tabi tutmuşlardır. Araştırmacılar tüm örneklerde belirli miktarlarda GABA belirlemiş olup, en yüksek GABA içeriğini fermente edilmiş *Spirulina*'da ortalama 228.6 mg kg⁻¹ olarak tespit etmişlerdir.

Sonuç

Zengin bir protein kaynağı olan ve çevre dostu kimliğiyle ön plana çıkan *S. platensis*, kefir gibi doğal probiyotik ürünlere ilave edilerek beslenme

açısından birtakım avantajlar sağlamaktadır. Bileşiminde bulunan çeşitli amino asitler, peptitler ve nörotransmitter maddeler insan sağlığının korunması açısından önem teşkil etmektedir. GABA, karnosin ve anserin gibi bileşenlerin günlük diyetle gıdalarla birlikte düzenli bir şekilde alınması sonucu birçok hastalığın önlenildiği ve zihinsel gelişim açısından olumlu katkılar sağlanabildiği bildirilmektedir. Fakat *S. platensis* ile zenginleştirilen kefirlerin proteince zengin olması ve üretim prosesi esnasında ısı ileme maruz kalması, HMF'nin oluşumu gibi bazı dezavantajları da beraberinde getirebilmektedir. Mevcut araştırmada, protein içeriğinin zenginleştirilmesi amacıyla kefir örneklerine farklı oranlarda *S. platensis* ilavesinin HMF ve indirgen şeker içeriğinin yanı sıra GABA, karnosin ve anserin içeriği üzerine etkisi incelenmiştir. Kefir örneklerinde *S. platensis* ilavesiyle indirgen şeker, HMF, GABA ve karnosin içeriğinin arttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda, mevcut araştırmada HMF içeriğinin tüm kefir örneklerinde EFSA tarafından belirtilen limitlerin altında olduğu ortaya konmuştur. Sonuç olarak, HMF içeriği açısından risk teşkil etmeyen *S. platensis* ilaveli kefirlerin biyoaktif bileşikler olan GABA, karnosin ve anserinin vücuttaki fizyolojik işlevlerinden yararlanabilmek adına tüketimi tavsiye edilebilmektedir.

Kaynakça

- Aktaş, B. (2022). *Spirulina platensis* ilave edilerek üretilen kefirin besin içeriğinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Aldini, G., de Courten, B., Regazzoni, L., Gilardoni, E., Ferrario, G., Baron, G., Altomare, A., D'Amato, A., Vistoli, G., & Carini, M. (2021). Understanding the antioxidant and carbonyl sequestering activity of carnosine: direct and indirect mechanisms. *Free Radical Research*, 55(4), 321-330.
DOI: <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1856830>
- Alkhatip, A., Feng, W. H., Huang, Y. J., Kuo, C. H., & Hou, C. W. (2020). Anserine reverses exercise-induced oxidative stress and preserves cellular homeostasis in healthy men. *Nutrients*, 12(4), 1146. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12041146>

- Arslan, S. (2015). A review: chemical, microbiological and nutritional characteristics of kefir. *CyTA-Journal of Food*, 13(3), 340-345. DOI: <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2014.981588>
- Atila, A., Alay, H., Yaman, M. E., Akman, T. C., Cadirci, E., Bayrak, B., Celik, S., Atila, N. E., Yaganoglu, A. M., Kadioglu, Y., Halici, Z., Parlak, E., & Bayraktutan, Z. (2021). The serum amino acid profile in COVID-19. *Amino Acids*, 53(10), 1569-1588. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-021-03081-w>
- Bakirci, İ., Terzioğlu, M. E., & Akkaya, İ. (2023). Volatile compounds, antioxidant activity, ACE inhibitory activity, HMF content and microstructure of fruit yoghurts. *Mljekarstvo*, 73(4), 250-262. DOI: <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2023.0404>
- Bartkiene, E., Tolpeznikaite, E., Klupsaite, D., Starkute, V., Bartkevics, V., Skrastina, A., Pavlenko, R., Mockus, E., Lele, V., Batkeviciute, G., Budrikyte, A., Janulyte, R., Jomantaite, I., Kybartaitė, A., Knystautaitė, K., Valionyte, A., Ruibys, R., & Rocha, J. M. (2023). Bio-converted *Spirulina* for nutraceutical chewing candy formulations rich in L-glutamic and gamma-aminobutyric acids. *Microorganisms*, 11(2), 441. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020441>
- Bashir, S., Sharif, M. K., Butt, M. S., & Shahid, M. (2016). Functional properties and amino acid profile of *Spirulina platensis* protein isolates. *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research Series B: Biological Sciences*, 59(1), 12-19. DOI: <https://doi.org/10.52763/PJSIR.BIOL.SCI.59.1.2016.12.19>
- Belay, A. (1997). Mass culture of *Spirulina* outdoors. The earthrise farms experience. In: Vonshak A (Ed.), *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-biology and Biotechnology*, 1st edn. (pp. 131-158). Taylor & Francis.
- Bilişi, A. (2019). *Gıda Kimyası*. İzmir: Sidas Yayınları.
- Cesak, O., Vostalova, J., Vidlar, A., Bastlova, P., & Student, V. (2023). Carnosine and beta-alanine supplementation in human medicine: narrative review and critical assesment. *Nutrients*, 15(7), 1770. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu15071770>
- Cui, Y., Shi, X., Tang, Y., Xie, Y., & Du, Z. (2020). The effects of heat treatment and fermentation processes on the formation of furfurals in milk-based dairy products using a QuEChERS technique followed by gas chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry. *Food Chemistry*, 313, 125930. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125930>
- Czerwonka, M., Pietrzak-Sajjad, R., & Bobrowska-Korczak, B. (2020). Evaluation of 5-hydroxymethylfurfural content in market milk products. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(7), 1135-1144. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1757162>
- Das, D., & Goyal, A. (2015). Antioxidant activity and γ-aminobutyric acid (GABA) producing ability of probiotic *Lactobacillus plantarum* DM5 isolated from Marcha of Sikkim. *LWT-Food Science and Technology*, 61(1), 263-268. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.11.013>
- Derave, W., De Courten, B., & Baba, S. P. (2019). An update on carnosine and anserine research. *Amino Acids*, 51, 1-4. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-018-02689-9>
- Diana, M., Quilez, J., & Rafecas, M. (2014). Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. *Journal of Functional Foods*, 10, 407-420. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.07.004>
- Ding, Q., Tanigawa, K., Kaneko, J., Totsuka, M., Katakura, Y., Imabayashi, E., Matsuda, H., & Hisatsune, T. (2018). Anserine/carnosine supplementation preserves blood flow in the prefrontal brain of elderly people carrying APOE e4. *Aging and Disease*, 9(3), 334-345. DOI: <https://doi.org/10.14336/AD.2017.0809>
- Dolan, E., Saunders, B., Dantas, W. S., Murai, I. H., Roschel, H., Artioli, G. G., Harris, R., Bicudo, J. E. P. W., Sale, C., & Gualano, B. (2018). A comparative study of hummingbirds and chickens provides mechanistic insight on the histidine containing dipeptide role in skeletal muscle metabolism. *Scientific Reports*, 8, 14788. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32636-3>
- Er Demirhan, B., Demirhan, B., Sönmez, C., Torul, H., Tamer, U., & Yentür, G. (2015). Determination of potential 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde and 2-furaldehyde compounds in follow-on milks and infant formulas using the high-performance liquid chromatography method. *Journal of Dairy Science*, 98(2), 818-822. DOI: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8761>
- Everaert, I., Baron, G., Barbaresi, S., Gilardoni, E., Coppa, C., Carini, M., Vistoli, G., Bex, T., Stautemas, J., Blancaquaert, L., Derave, W., Aldini, G., & Regazzoni, L. (2019). Development and validation of a sensitive LC-MS/MS assay for the quantification of anserine in human plasma and urine and its application to pharmacokinetic study. *Amino Acids*, 51, 103-114. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2663-y>
- Farag, M. R., Alagawany, M., Bin-Jumah, M., Othman, S. I., Khafaga, A. F., Shaheen, H. M., Samak, D., Shehata, A. M., Allam, A. A., & Abd El-Hack, M. E. (2020). The toxicological aspects of the heat-borne toxicant 5-hydroxymethylfurfural in animals: a review. *Molecules*, 25(8), 1941. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25081941>
- Galli, V., Venturi, M., Mari, E., Guerrini, S., & Granchi, L. (2022). Gamma-aminobutyric acid (GABA) production in fermented milk by lactic acid bacteria isolated from spontaneous raw milk fermentation. *International Dairy Journal*, 127, 105284. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105284>
- Garbowska, M. Pluta, A., & Berthold-Pluta, A. (2020). Contents of functionally bioactive peptides, free amino acids, and biogenic amines in Dutch-type cheese models produced with different *Lactobacilli*. *Molecules*, 25(22), 5465. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25225465>

- Gharehyakheh, S. (2021). Gamma aminobutyric acid (GABA) production using *Lactobacillus* sp. *Makhdzir Naser-1* (GQ451633) in the cherry-kefir beverage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45, e15521. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.15521>
- Gün, D. (2019). *Spirulina platensis ilavesi ile fonksiyonel bisküvi ve kraker geliştirilmesi*. Doktora Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- Hamzaoglu, F. (2023). *Amino asitlerle zenginleştirilmiş nar ve portakaldan oluşan karışık meyve suyunun depolama boyunca antosiyanin stabilitesi*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Haus, J. M., & Thyfault, J. P. (2018). Therapeutic potential of carbonyl-scavenging carnosine derivative in metabolic disorders. *The Journal of Clinical Investigation*, 128(12), 5198-5200. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI124304>
- Hisatsune, T., Kaneko, J., Kurashige, H., Cao, Y., Satsu, H., Totsuka, M., Katakura, Y., Imabayashi, E., & Matsuda, H. (2016). Effect of anserine/carnosine supplementation on verbal episodic memory in elderly people. *Journal of Alzheimer's Disease*, 50(1), 149-159. DOI: <https://doi.org/10.3233/JAD-150767>
- Hocquette, A., Lambert, C., Siquin, C., Peterloff, L., Wagner, Z., Bonny, S. P. F., Lebert, A., & Hocquette, J. F. (2015). Educated consumers don't believe artificial meat is the solution to the problems with the meat industry. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2), 273-284. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60886-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60886-8)
- Hou, Y., Zhang, X., Liu, X., Wu, Q., Hou, J., Su, P., & Guo, Q. (2022). Comparison of the effects of 5-hydroxymethylfurfural in milk powder matrix and standard water on oxidative stress system of Zebrafish. *Foods*, 11(12), 1814. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods11121814>
- Hussin, F. S., Chay, S. Y., Hussin, A. S. M., Ibadullah, W. Z. W., Muhialdin, B. J., Ghani, M. S. A., & Saari, N. (2021). GABA enhancement by simple carbohydrates in yoghurt fermented using novel, self-cloned *Lactobacillus plantarum* Taj-Apis362 and metabolomics profiling. *Scientific Reports*, 11, 9417. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88436-9>
- Hutkins, R. W. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Ames: Blackwell Publishing.
- Inoue, K., Shirai, T., Ochiai, H., Kasao, M., Hayakawa, K., Kimura, M., & Sansawa, H. (2003). Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing γ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. *European Journal of Clinical Nutrition*, 57(3), 490-495. DOI: <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601555>
- Kaneko, J., Enya, A., Enomoto, K., Ding, Q., & Hisatsune, T. (2017). Anserine (beta-alanyl-3-methyl-L-histidine) improves neurovascular-unit dysfunction and spatial memory in aged A β PPswe/PSEN1dE9 Alzheimer's-model mice. *Scientific Reports*, 7, 12571. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-12785-7>
- Khanlari, Z., Moayedi, A., Ebrahimi, P., Khomeiri, M., & Sadeghi, A. (2021). Enhancement of γ -aminobutyric acid (GABA) content in fermented milk by using *Enterococcus faecium* and *Weissella confusa* isolated from sourdough. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15869. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.15869>
- Knoflach, F., Hernandez, M. C., & Bertrand, D. (2018). Methods for the discovery of novel compounds modulating a gamma-aminobutyric acid receptor type a neurotransmission. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, 138, e57842. DOI: <https://doi.org/10.3791/57842>
- Li, M., Shen, M., Lu, J., Yang, J., Huang, Y., Liu, L., Fan, H., Xie, J., & Xie, M. (2022). Maillard reaction harmful products in dairy products: formation, occurrence, analysis, and mitigation strategies. *Food Research International*, 151, 110839. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110839>
- Li, Y. H., Wang, W. J., Guo, L., Shao, Z. P., & Xu, X. J. (2019). Comparative study on the characteristics and oxidation stability of commercial milk powder during storage. *Journal of Dairy Science*, 102(10), 8785-8797. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16089>
- Masuoka, N., Yoshimine, C., Hori, M., Tanaka, M., Asada, T., Abe, K., & Hisatsune, T. (2019). Effects of anserine/carnosine supplementation on mild cognitive impairment with APOE4. *Nutrients*, 11(7), 1626. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu11071626>
- Mercan, F. (2022). *Spirulina (Arthrospira) platensis biyokütlesinin laktik asit fermentasyonu için substrat olma potansiyelinin değerlendirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Nejati, F., Rizzello, C. G., Di Cagno, R., Sheikh-Zeinoddin, M., Diviccaro, A., Minervini, F., & Gobbetti, M. (2013). Manufacture of a functional fermented milk enriched of Angiotensin-I Converting Enzyme (ACE)-inhibitory peptides and γ -amino butyric acid (GABA). *LWT-Food Science and Technology*, 51(1), 183-189. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2012.09.017>
- Ngo, D. H., & Vo, T. S. (2019). An updated review on pharmaceutical properties of gamma-aminobutyric acid. *Molecules*, 24(15), 2678. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24152678>
- Nuss, P. (2015). Anxiety disorders and GABA neurotransmission: a disturbance of modulation. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 165-175. DOI: <https://doi.org/10.2147/NDT.S58841>
- Oketch-Rabah, H. A., Madden, E. F., Roe, A. L., & Betz, J. M. (2021). United States Pharmacopeia (USP) safety review of gamma-aminobutyric acid (GABA). *Nutrients*, 13(8), 2742. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13082742>
- Özbal, B. (2020). *Spirulina platensis ile fonksiyonel çikolata ürünü geliştirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- Özdal, H. R., Yildiz, B., & Arkun, G. (2018). Hydroxymethylfurfural (HMF) formation in milk and dairy

- products. *International Journal of Food Engineering Research*, 4(1), 13-23.
- Pellegrino, L., Masotti, F., Cattaneo, S., Hogenboom, J. A., & De Noni, I. (2013). Nutritional quality of milk proteins. *Advanced Dairy Chemistry: Volume 1A: Proteins: Basic Aspects*, 4th Edition, 515-538.
- Recommended Dietary Allowance (RDA), (2005). Institute of Medicine. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids. Washington, DC: The National Academies Press. Retrieved from: <https://doi.org/10.17226/10490>
- Reyes, E., Ladero, V., Tornadijo, M. E., & Fresno, J. M. (2019). Production of sheep milk cheese with high γ -aminobutyric acid and ornithine concentration and with reduced biogenic amines level using autochthonous lactic acid bacteria strains. *Food Microbiology*, 78, 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.09.003>
- Rosa, D. D., Dias, M. M. S., Grześkowiak, Ł. M., Reis, S. A., Conceição, L. L., & Peluzio, M. D. C. G. (2017). Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. *Nutrition Research Reviews*, 30(1), 82-96. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0954422416000275>
- Sahab, N. R., Subroto, E., Balia, R. L., & Utama, G. L. (2020). γ -Aminobutyric acid found in fermented foods and beverages: current trends. *Heliyon*, 6(11), e05526. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05526>
- Saldamlı, İ., & Temiz, A. (2017). Amino asitler, peptitler, proteinler. Saldamlı, İ. (Ed.), *Gıda Kimyası*, (pp. 227-317). Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Siragusa, S., De Angelis, M., Di Cagno, R., Rizzello, C. G., Coda, R., & Gobbetti, M. (2007). Synthesis of γ -aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(22), 7283-7290. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.01064-07>
- Terzioğlu, M. E., & Bakırcı, İ. (2023). Comparison of buffalo's, sheep's and goat's yoghurts in terms of their antioxidant activity, angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, volatile compound content and 5-hydroxymethylfurfural (HMF) content. *Medycyna Weterynaryjna-Veterinary Medicine-Science and Practice*, 79(3), 148-152. DOI: [dx.doi.org/10.21521/mw.6727](https://doi.org/10.21521/mw.6727)
- Terzioğlu, M. E., Arslaner, A., & Bakırcı, İ. (2023). Çilekle zenginleştirilmiş manda yoğurdunun kalite karakteristikleri ile yağ asidi kompozisyonu, ACE inhibitör aktivite ve HMF içeriği bakımından incelenmesi. *Gıda*, 48(2), 381-393. DOI: <https://doi.org/10.15237/gida.GD22101>
- Urdaneta, E., Barrenetxe, J., Aranguren, P., Irigoyen, A., Marzo, F., & Ibáñez, F. C. (2007). Intestinal beneficial effects of kefir-supplemented diet in rats. *Nutrition Research*, 27(10), 653-658. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2007.08.002>
- Van den Oever, S. P., & Mayer, H. K. (2021). Analytical assessment of the intensity of heat treatment of milk and dairy products. *International Dairy Journal*, 121, 105097. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105097>
- Xing, Q., Fu, X., Liu, Z., Cao, Q., & You, C. (2021). Contents and evolution of potential furfural compounds in milk-based formula, ultra-high temperature milk and pasteurised yoghurt. *International Dairy Journal*, 120, 105086. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105086>
- Xing, Q., Ma, Y., Fu, X., Cao, Q., Zhang, Y., & You, C. (2020). Effects of heat treatment, homogenization pressure, and overprocessing on the content of furfural compounds in liquid milk. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 5276-5282. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.10578>
- Yetim, H., & Tekiner İ. H. (2020). Alternatif protein kaynaklarından yapay et üretimi kavramına eleştirel bir bakış. *Helal ve Etik Araştırmalar Dergisi*, 2(2), 85-100.
- Yeum, K. J., Orioli, M., Regazzoni, L., Carini, M., Rasmussen, H., Russell, R. M., & Aldini, G. (2010). Profiling histidine dipeptides in plasma and urine after ingesting beef, chicken or chicken broth in humans. *Amino Acids*, 38, 847-858. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00726-009-0291-2>
- Yilmaz-Ersan, L., Sahin, S., Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., Usta-Gorgun, B., Ciniviz, M., & Keser, G. (2022). Interaction of probiotic activity, antioxidative capacity, and gamma-amino butyric acid (GABA) in chestnut milk-fortified yogurt. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(12), e17266. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfpp.17266>
- Zepka, L. Q., Jacob-Lopes, E., & Roca, M. (2019). Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. *Current Opinion in Food Science*, 26, 94-100. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.04.004>
- Zhang, L., Hu, Y., Badar, I. H., Xia, X., Kong, B., & Chen, Q. (2021). Prospects of artificial meat: Opportunities and challenges around consumer acceptance. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 434-444. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.01>



Molehiya (*Corchorus olitorius* L.) ve Altın otu (*Helichrysum arenarium* L.) ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri ile fenolik bileşenlerinin belirlenmesi

Determination of phytochemical contents, antioxidant and antibacterial properties with phenolic compounds of extracts of Molehiya (*Corchorus olitorius* L.) and Altın otu (*Helichrysum arenarium* L.)

Filiz UÇAN TÜRKMEN^{*1}, Kibar YAPICI², Elife OSMAN³, Gülcan KOYUNCU⁴, Ümit Haydar EROL⁵

^{1,2,3}Kilis 7 Aralık University, Faculty of Science, Department of Molecular Biology and Genetics, Kilis, Turkey

⁴Kilis 7 Aralık University, Vocational School of Technical Sciences, Department of Food Processing, Kilis, Turkey

⁵Kilis 7 Aralık University, Advanced Technology Application and Research Center, Kilis, Turkey

¹<https://orcid.org/0000-0002-3653-9433>; ²<https://orcid.org/0009-0007-0883-0550>; ³<https://orcid.org/0009-0008-0913-6883>; ⁴<https://orcid.org/0000-0001-7406-5331>; ⁵<https://orcid.org/0000-0001-6126-5844>

To cite this article:

Türkmen, F., Yapıcı, K., Osman, E., Koyuncu, G. & Erol, Ü. (2024). Molehiya (*Corchorus olitorius* L.) ve altın otu (*Helichrysum arenarium* L.) ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri, antioksidan ve antibakteriyel özellikleri ile fenolik bileşenlerinin belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 131-145
DOI: 10.29050/harranziraat.1327041

*Address for Correspondence:

Filiz UÇAN TÜRKMEN
e-mail:
ucanfiliz@gmail.com

Received Date:

17.07.2023

Accepted Date:

01.03.2024

© Copyright 2018 by Harran University
Faculty of Agriculture. Available on-line
at www.dergipark.gov.tr/harranziraat



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License.

Öz

Bu çalışmada, Molehiya (*Corchorus olitorius* L.) ve Altın otu (*Helichrysum arenarium* L.) bitkilerinin metanol ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri, antioksidan aktiviteleri ve antimikrobiyal aktiviteleri ile fenolik bileşenleri araştırılmıştır. Toplam fenolik ve flavonoid içerikleri bakımından iki bitki ekstraktı kıyaslandığında Molehiya ekstraktında daha yüksek verilere ulaşılmıştır. Altın otu metanol ekstraktının askorbik asit miktarı Molehiya metanol ekstraktından 5 kat fazla bulunmuştur. Molehiya metanol ekstraktında DPPH· radikali giderme aktivitesi %76.97 olarak tespit edilirken, Altın otu metanol ekstraktında ise bu değer daha düşük (%73.06) bulunmuştur. Tüm antioksidan analizleri birlikte değerlendirildiğinde, 6 antioksidan analizinin 4'ünde Molehiya metanol ekstraktının antioksidan değerleri, Altın otu metanol ekstraktından daha yüksek tespit edilmiştir. Fenolik bileşen miktarları toplamı, Altın Otu metanol ekstraktı (110.866,394 mg kg⁻¹) > Molehiya metanol ekstraktı (39.803,77 mg kg⁻¹) şeklinde tespit edilmiştir. *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027'ye karşı özütlerde herhangi bir inhibitör etkiye rastlanmazken; *Staphylococcus aureus* ATCC 25923'e karşı inhibitör etki, Altın otu ve Molehiya metanol ekstraktlarında gözlenmiş ve zon çapları sırasıyla 12 ve 9 mm olarak ölçülmüştür. Sonuçlarımıza göre, bu bitkilerin metanol ekstraktlarının gıda, fitoterapi ve tıbbi uygulamalar için yararlı olabileceğini söylememiz mümkündür.

Anahtar Kelimeler: Molehiya (*Corchorus olitorius* L.), Altın otu (*Helichrysum arenarium* L.), Fenolik bileşen, Antioksidan, Antibakteriyel

ABSTRACT

In this study, phytochemical contents, antioxidant activities, antimicrobial activities and phenolic components of methanol extracts of Molehiya (*Corchorus olitorius* L.) and Golden grass (*Helichrysum arenarium* L.) plants were investigated. When the two plant extracts were compared in terms of total phenolic and flavonoid contents, higher data were obtained in Molehiya extract. The amount of ascorbic acid of golden grass methanol extract was 5 times higher than that of Molehiya methanol extract. While the DPPH radical scavenging activity was determined as 76.97% in Molehiya methanol extract, this value was found to be lower in the methanol extract of golden grass (73.06%). When all antioxidant analyzes were evaluated together, the antioxidant values of Molehiya methanol extract

were found to be higher than Goldengrass methanol extract in 4 of 6 antioxidant analyses. The total amount of phenolic components was determined as Golden Herb methanol extract ($110.866,394 \text{ mg kg}^{-1}$) > Molehiah methanol extract ($39.803,77 \text{ mg kg}^{-1}$). While no inhibitory effect was observed in the extracts against *E. coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027; Inhibitory effect against *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 was observed in methanol extracts of Golden grass and Molehiah, and the zone diameters were measured as 12 and 9 mm, respectively. According to our results, it is possible to say that methanol extracts of these plants can be useful for food, phytotherapy and medical applications.

Key Words: *Molehiah (Corchorus olitorius L.)*, *Golden grass (Helichrysum arenarium L.)*, *Phenolic compound*, *Antioxidant*, *Antibacterial*

Giriş

Günümüzde ilerleyen teknolojinin beraberinde getirdiği sağlık sorunlarından kaçınmak için doğala ve doğaya dönüş eğilimi gittikçe artmaktadır. Ülkemizde sağlık hizmetlerine ulaşmanın zor ve pahalı olması nedeniyle çok sayıda kişi koruyucu ya da tedavi edici amaçlarla, doğrudan bitkileri veya bitkisel ürünleri kullanmaktadır (Erdem ve Eren, 2009).

Tıbbi ve aromatik bitkiler; gıda, ilaç, kozmetik ve baharat dahil olmak üzere birçok farklı kullanım amacı olan bitkilerdir ve insanlık tarihinin başlangıcından beri bu tür amaçlar için kullanıldıkları bilinmektedir. Söz konusu bitkilerin bir kısmı doğadan toplanırken, diğer bir kısmı ise kültüre alınarak üretilir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin en çok göze çarpan ve araştırmaya konu olan özelliklerinden biri tedavi amaçlı kullanımlarıdır. Ülkemiz bulunduğu coğrafi konum ve iklim özellikleri nedeniyle çok çeşitli bitki türüne sahiptir (Acıbuca ve Budak, 2018).

Corchorus olitorius L., Malvaceae familyasından *Corchorus* cinsi içinde yer alan, otsu bir bitkidir. Genel olarak tropik ve yarı tropik alanlarda bulunur. Anavatanının bazı araştırmacılar tarafından Asya, diğerleri tarafından Afrika olduğu söylenmektedir. *C. Corchorus* cinsi içinde yaklaşık 40 ila 100 tür bulunmasına rağmen, *Corchorus olitorius* L. ve *Corchorus capsularis* L. dünya çapında lifi için kullanılan türlerdir. Bununla birlikte, Akdeniz Havzası ve Ortadoğu ülkelerinde (Mısır, Lübnan, Filistin, Ürdün, Suriye, Tunus ve Kıbrıs) *Corchorus olitorius*'un tohumları çeşni olarak; taze yaprakları ise sebze olarak kullanılmakta iken, kuru yaprakları bitki çayı olarak kullanılmaktadır. Bitkinin yapraklarından yapılan

"Molehiya", Kıbrıs'ta hem Türk hem de Arap mutfağının geleneksel yemekleri arasındadır (Tuncer ve Ummuhan, 2017). Arap mutfağında *C. olitorius* yaprakları, "Molukhyia" ve "Molokhia" adları altında çorbalarda koyulaştırıcı olarak kullanılmaktadır (Chigurupati ve ark., 2020).

Corchorus olitorius yapraklarının fitokimyasal içeriğini; flavonoidler, saponinler, tanenler, steroidler, terpenler, alkaloidler, glikozitler ve fenolik bileşikler oluşturmaktadır. *Corchorus olitorius* yapraklarında protein miktarı daha yüksek bulunurken, gövde ve meyve kısımlarında ham yağ oranının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Genel olarak analiz edilen *Corchorus olitorius*'un yapraklarının, meyve ve gövdelerine göre daha yüksek mineral değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Ndlovu ve Afolayan, 2008; Orieke ve ark., 2018; Ürüşan ve ark., 2022).

Altın otu, Latince adı "*Helichrysum arenarium*" olan altın sarısı renginden dolayı bu adı alan ve 50-60 santimetre boyunda sarıçiçekler açan otsu bir bitkidir. Halk arasında değişik isimlerle de anılır: Altın çiçek, ölmez çiçek, güneş çiçeği, arı çiçeği vb. ve anavatanı Avrupa'dır. Ülkemizde Doğu Anadolu'da yetişmektedir. Altın Otu, kayalık alanlarda büyüyen çok yıllık otsu bir bitkidir. Altın otu ülkemizde her yerde yetişmekte ve iklim koşullarına bağlı olmadığından her zaman taze olarak temin edilebilmektedir (Şen ve Kalaycı, 2016).

Helichrysum arenarium'un çiçeği özellikle antibakteriyel, antiviral, antifungal, antienflamatuar, antiproliferatif, antimikrobiyal, antialerjik, antioksidan, antiradikal, kolinerjik, hepatoprotektif ve detoksifikasyon aktiviteleri de dahil olmak üzere birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (Tepe ve ark., 2005; Mao ve ark., 2017; Liu

ve ark., 2019). Altın otu; halk hekimliğinde karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıkları, lumbago, mide ağrısı, astım, artrit bozuklukları, sistit, sarılık, cilt enfeksiyonları, solunum ve sindirim sistemi bozuklukları, böbrek taşı, üro-genital bozukluklar gibi çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılmıştır. Ayrıca kozmetik endüstrisinde kokusu için uzun yıllardır kullanılmaktadır (Liu ve ark., 2019; Umaz ve Umaz, 2020).

Geçmişten günümüze kadar hastalıkların önlenmesi veya tedavisinde sıklıkla kullanılan bitkilerin bu etkilerini fenolik bileşenler olarak bilinen sekonder metabolitler aracılığıyla meydana getirdikleri ve bu fenolik bileşenlerin de hem antioksidan hem de antimikrobiyal aktivite göstererek birçok tedavide etkin rol oynadıkları bilgisinden yola çıkılarak; molehiya ve altın otu bitkilerinin aktivitelerinin araştırılması çalışmamızın hipotezini oluşturmuştur. Bu çalışmamızda *Molehiya (Corchorus olitorius L.)* ve *Altın otu (Helichrysum arenarium L.)*, bitkilerinin metanol ekstraktlarının fitokimyasal içeriklerinin (toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve askorbik asit miktarı) ve aynı zamanda antioksidan aktivitelerinin (DPPH radikal giderim testi, fosfomolibdenyum, demir iyonlarını şelatlama, indirgeme kapasitesi, bakır indirgeme, ABTS radikal katyonu giderimi) araştırılarak, antibakteriyel aktivitelerinin tespit edilmesi ve fenolik bileşimlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bahsi geçen bitki ekstraktları ile ilgili sınırlı literatür bilgisi olduğu için konunun son derece özgün olduğu ve elde edilecek verilerin gıda, kozmetik ve sağlık endüstrilerine önemli katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

Materyal ve Metot

Materyal

Bu çalışmada kullanılan Molehiya ve Altın otu bitkileri Gaziantep ilinde bulunan Kürkcü Hanı Baharatları adı verilen aktardan kurutulmuş olarak satın alınmıştır.

Ekstraksiyon

Aktardan temin edilen kurutulmuş bitkiler, öğütülerek (Arçelik K 3104 marka kahve ve baharat öğütücü) toz haline getirilmiş ve sonrasında %85'lik metanol (50:500 (w v⁻¹)) ile oda sıcaklığında 1dk. blenderda homojenize edilmiştir. Daha sonra 5000 rpm'de 10 dk. +4 °C'de santrifüj edilerek, filtre kağıdı (Whatman filter paper No.1) ile süzildükten sonra süpernatant 55 °C'de vakum altında uzaklaştırılmış (Şekil 1.) ve örnekler analizlerde kullanılmak üzere +4 °C'de depolanmıştır (Aydın ve ark., 2015).

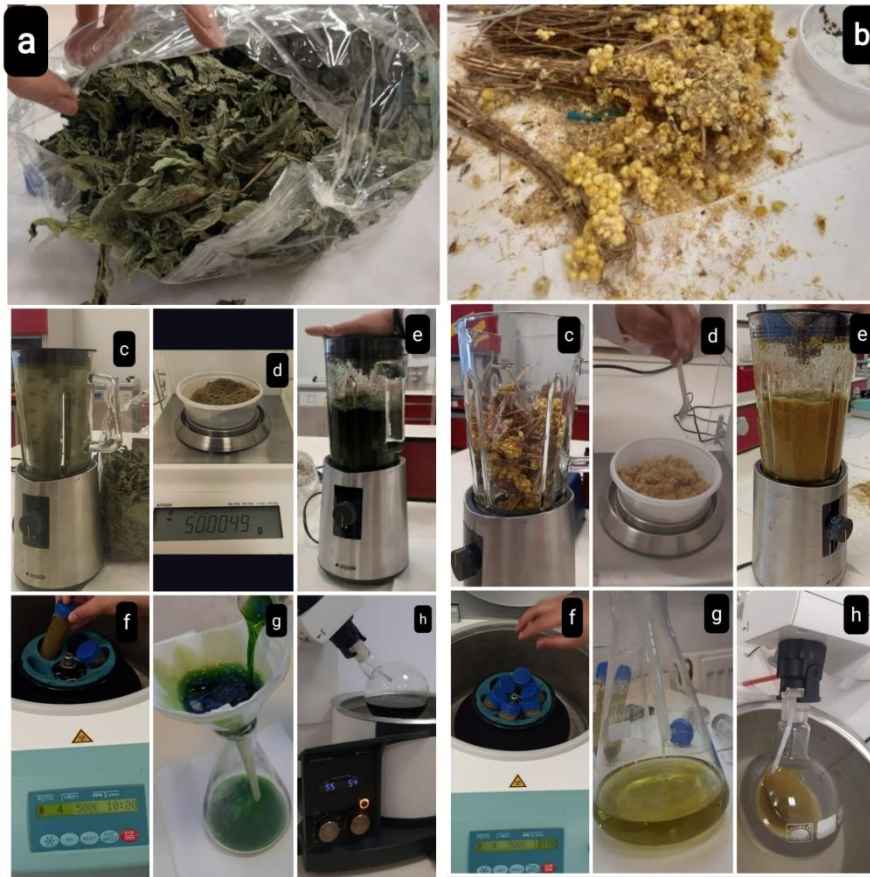
Analizler

Toplam fenolik madde miktarı

Methanol ekstraktından 500 µL alınarak, üzerine 2.5 mL %10'luk FolinCiocalteu reaktifi ile %7.5'lik 2.5 mL NaHCO₃ eklenip 45 °C'de 45 dk. su banyosunda inkübe edilmiş ardından 765 nm'de spektrofotometre (Biochrom, LibraS60, B, England) ile absorbanslar ölçülmüştür. Hesaplamalar mg GAE g⁻¹ şeklindedir (Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı, 2018).

Toplam flavonoid madde miktarı

Metanol ekstraktları 1:5 oranında seyreltildikten sonra, %5'lik 0.3 mL NaNO₂ eklenmiş, örnekler 5 dk. oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Daha sonra karışıma %10'luk AlCl₃.6H₂O 0.6 mL eklenmiş yine 5 dk. oda sıcaklığında inkübe edilip 1M NaOH 2 mL eklenmiştir. Sonrasında saf suyla son hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır. Absorbanslar 510 nm'de spektrofotometre kullanılarak yapılmış ve sonuçlar mg RE g⁻¹ şeklinde verilmiştir (Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı, 2018).



Şekil 1. Bitki özütlerini elde etmek için ekstraksiyon aşamaları **a.** Molehiya bitkisinin yaprak kısımları **b.** Altın otu bitkisinin kısımları **c.** Öğütme **d.** Tartım **e.** %85'lik metanol ile homojenize etme **f.** santrifüjleme **g.** Süzme **h.** süpernatantı uzaklaştırma

Figure 1. Extraction steps to obtain plant extracts **a.** Leaf parts of the Molehiya **b.** Parts of the goldengrass **c.** Grinding **d.** Weighing **e.** homogenizing with 85% methanol **f.** centrifugation **g.** filtration **h.** removing the supernatant

Askorbik asit miktarı

Ekstrelerin L-askorbik asit miktarları, mg L^{-1} şeklinde 2,6-diklorofenolindofenol aracılığıyla, Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı (2018)'ya göre gerçekleştirilmiştir.

% DPPH' radikal giderme aktivitesi

Ekstraktlardan 100 μL alınarak, 3900 μL DPPH (0.025 g L^{-1} metanolde) eklenmiş; numuneler oda sıcaklığında ve karanlıkta 120 dk. inkübasyona tabii tutulmuş, 515 nm 'de spektrofotometrede absorbans ölçümleri yapılmıştır. İnhibisyonlar aşağıdaki denkleme (1) göre % olarak hesaplanmıştır (Ucan Türkmen ve Mercimek Takcı, 2018).

$$\% \text{ DPPH' Radikal Giderme Aktivitesi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) \times 100}{A_{\text{kontrol}}} \quad (1)$$

A_{kontrol} : Kontrolün absorbansı

$A_{\text{örnek}}$: Örneğin absorbansı

Demir indirgeme kapasitesi tayini (FRAP)

Ekstraktlardan 1'er mL alınıp üzerlerine 0.2 M fosfat tamponu ($\text{pH}=6.6$) 2.5 mL eklenmiştir. Daha sonra % 1'lik 2.5 mL $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ çözeltisi eklenerek 50 $^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dk. inkübasyondan sonra 2.5 mL TCA (% 10) eklenmiştir. Sonrasında örnekler 2500 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatantlardan 2.5 mL alınarak eşit miktarda saf su ilavesiyle % 0.1'lik 0.5 mL FeCl_3 eklenmiştir. Absorbans ölçümleri spektrofotometrede 700 nm 'de gerçekleştirilmiştir (Ucan Türkmen ve ark., 2022).

Troluks eşdeğeri antioksidan kapasite testi (TEAC)

ABTS solüsyonu (7mM) hazırlamak için 2.45 mM potasyum persülfat kullanılmıştır. Bu solüsyon, ABTS radikalini üretmek için 12 ve 16 saat boyunca 20 $^{\circ}\text{C}$ 'ye ayarlanmış bir inkübatörde tutulmuştur. Radikal solüsyonu, numuneleri ve Trolox

standardını seyreltmek için kullanılan PBS (fosfat tamponu; Fosfat Tampon Salin) solüsyonu hazırlanmış ve 0.1 M fosfat tamponuna 8.77 g NaCl eklenmiş ve pH 7.4'e ayarlanmıştır. Analize başlamadan önce 1 ml ABTS radikal çözeltisi alınmış ve yaklaşık 90-100 mL PBS ile 734 nm'de 0.700 ± 0.02 'lik bir absorbansa seyreltilmiştir. Daha sonra ekstrakt ve PBS karıştırılmış; absorbanlar ölçülmüştür. Sonuçlar TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) değeri olarak ifade edilmiştir (Ucan Türkmen ve ark., 2020).

Fosfomolibdenyum antioksidan kapasite testi

Reaktif çözeltiden 3 mL alınarak (0.6 M sülfürik asit, 28 mM sodyum fosfat ve 4 mM amonyum molibdat), 300 µl ekstrakt ile hızla karıştırılmış ve 95 °C'de 90 dakika inkübasyondan sonra, absorban 695 nm'de ölçülmüştür (Biochrom, Libra S60, B). Toplam antioksidan kapasite, trolox eşdeğeri ($\mu\text{g TE g}^{-1}$) olarak ifade edilmiştir. Her bir spektrofotometrik analiz en az üç kez tekrarlanmıştır (Zengin ve ark., 2014).

Bakır iyonu indirgeme aktivitesi (CUPRAC)

Ekstraktlardan 0.5 mL alınarak üzerine, CuCl_2 (1 mL, 10 mM), neokuproin (1 mL, 7,5 mM) ve NH_4AC tamponu (1 mL, 1 M, pH 7.0) eklenmiştir. Benzer şekilde, CuCl_2 içermeyen önceden karıştırılmış bir reaksiyon karışımına (3 mL) numune solüsyonu (0.5 mL) eklenerek bir kör hazırlanmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında 30 dakika inkübasyondan sonra numune ve kör absorbanları 450 nm'de okunmuştur (Baltacı ve ark., 2021).

Fenolik bileşiklerin tayini

Örnek ekstraktlarında fenolik bileşenlerin analizi ters-faz yüksek performanslı sıvı kromatografisi (Agilent, 1260 Infinity RP-HPLC, USA) tekniği kullanılarak saptanmıştır. Fenolik bileşenlerin ayrımı C18 ters faz (110 Å, 5 µm, 4.6 x 250 mm, ACE Generix) HPLC kolonunda yapılmıştır. Ayrım işlemi; enjeksiyon hacmi 10 µl, mobil faz A (%0,1 fosforik asit-su çözeltisi) ve B (%100 asetonitril) gradiyent sistemi, fırın sıcaklığı 30 °C ve DAD (diode array dedector) dedektörü kullanılmıştır. Fenolik bileşenlerin

konsantrasyonları dış standart yöntemi ile belirlenmiş olup bileşenler alıkonma zamanlarına göre tanımlanmıştır. Elde edilen veriler mg/kg kuru ağırlık şeklinde ifade edilmiştir (Mradu ve ark., 2012; Mizzi ve ark., 2020).

Antibakteriyel aktivite

Kirby-Bauer disk difüzyon metoduna göre antimikrobiyel analizler yapılmıştır (Bauer ve ark., 1966). Mueller Hinton Agara steril eküvyon çubuk kullanılarak, önceden 0.5 MacFarland bulanıklığa ayarlanan mikroorganizma kültürlerinin inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 6mm çaplı steril boş disklerle her ekstraktan 20 µL emdirilerek agar yüzeyine steril penset yardımıyla yerleştirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Spesifik pozitif kontrol olarak test edilen her mikroorganizma türüne özgü antibiyotik diskler kullanılmıştır: *E. coli* ATCC 25922 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 için Tetrasiklin (30 mcg/disk), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 için Polimiksin B (300 unite/disk), *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 için Metisillin (5 mcg/disk). Ayrıca steril boş disklerle 20 µL metanol negatif kontrol için emdirilmiştir. 37°C'de 12-24 saat inkübasyondan sonra disklerin etrafında bakterilerin üremediği şeffaf zonlar gözlemlenmiştir.

İstatistiksel analiz

Analiz sonuçları SPSS 23.0 paket programı kullanılarak varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan farklılıklar bağımsız örneklem t-testi (independent sample t-test) karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Molehiya ve Altın Otu ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ile fitokimyasal içerikleri

Molehiya ve Altın otu metanol ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri ile antioksidan aktiviteleri Çizelge 1. ve Çizelge 2.'de verilmiştir.

Molehiya ve Altın otu bitkilerinin metanol ekstraktlarına uygulanan fitokimyasal ve antioksidan analizler arasında istatistiksel olarak

anamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için bağımsız örneklem t-testi (independent sample t-test) uygulanmıştır. Yapılan analizler sonucunda iki bitki ekstresi arasında DPPH radikal giderimi, askorbik asit, fosfomolibdenyum, bakır indirgeme ve ABTS analizleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Diğer analizler (toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve FRAP) için ise, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p > 0.05$).

Molehiya ve Altın otu metanol ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri; toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve askorbik asit miktarları incelenerek belirlenmiştir. Molehiya bitkisinin metanol ekstraktında toplam fenolik madde miktarı $0.716 \text{ mg GAE g}^{-1}$; Altın otu metanol ekstraktında ise $0.668 \text{ mg GAE g}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Toplam flavonoid madde miktarı ise, Molehiya ve Altın otu ekstraktlarında sırasıyla $0.075 \text{ mg RE g}^{-1}$ ve $0.057 \text{ mg RE g}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Askorbik asit miktarı ise Molehiya metanol ekstraktında 52.56 mg L^{-1} olarak belirlenirken, Altın otu ekstraktında ise bu değer 264.94 mg L^{-1} olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik ve flavonoid içerikleri bakımından iki bitki ekstraktı kıyaslandığında Molehiya ekstraktında daha yüksek verilere ulaşılmıştır. Altın otu metanol ekstraktının askorbik asit miktarı Molehiya metanol ekstraktından 5 kat fazla bulunmuştur (Çizelge 1.).

Bitki ekstraktlarına antioksidan analizler de uygulanmış ve bu bitki ekstraktlarının antioksidan içerikleri açığa çıkarılmaya çalışılmıştır (Çizelge 2.) buna göre Molehiya metanol ekstraktında DPPH radikalini giderme aktivitesi %76.97 iken, Altın otu metanol ekstraktında ise bu değer %73.06 olarak tespit edilmiştir. Fosfomolibdenyum analizi ile antioksidan analizi sonuçlarına göre ise, Molehiya metanol ekstraktında $0.60 \text{ } \mu\text{g TE g}^{-1}$, Altın otu metanol ekstraktında ise $1.06 \text{ } \mu\text{g TE g}^{-1}$ değerine ulaşılmıştır. Demir indirgeme kapasitesi tayininde (FRAP), Molehiya metanol ekstraktında 1.280 abs., Altın otu metanol ekstraktında ise 1.430 abs. değerleri elde edilmiştir. Bakır indirgeme antioksidan analizinde (CUPRAC) değerler, Molehiya metanol ekstraktında (130.95 mg troloks eşdeğeri g örnek⁻¹) Altın otu metanol ekstraktından daha yüksek (88.60 mg troloks eşdeğeri g örnek⁻¹) bulunmuştur. Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) analizinde % inhibisyon, Molehiya ekstraktında %14.35 olarak tespit edilirken, altın otu bitkisinde yüzde inhibisyon bulunamamıştır. Aynı analizde değerler $\mu\text{M troloks eşdeğeri } 10 \text{ g}^{-1}$ şeklinde hesaplandığında, Molehiya ve Altın otu ekstraktlarında değerler sırasıyla 19.32 ve 4.71 şeklinde tespit edilmiştir. Tüm antioksidan analizleri birlikte değerlendirildiğinde, 6 antioksidan analizinin 4'ünde Altın otu metanol ekstraktının antioksidan değerleri Molehiya metanol ekstraktından daha yüksek tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Molehiya ve Altın Otu bitkilerinin metanol ekstraktlarının fitokimyasal içerikleri

Table 1. Phytochemical Contents of Methanol Extracts of Molehiya and Altın Otu Plants

Ekstraktlar	Toplam Fenolik Madde (mg GAE g ⁻¹)	Toplam Flavonoid Madde (mg RE g ⁻¹)	Ascorbik Asit Miktarı (mg L ⁻¹)
Extracts	Total phenolics (mg GAE g ⁻¹)	Total flavonoids (mg RE g ⁻¹)	Ascorbic acid amount (mg L ⁻¹)
Molehiya <i>Molehiyah</i>	0.716±0.07	0.075±0.01	52.56±2.69
Altın Otu <i>Golden grass</i>	0.668±0.11	0.057±0.00	264.94±8.01

Çizelge 2. Molehiya ve Altın Otu bitkilerinin metanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

Table 2. Antioxidant Activities of Methanol Extracts of Molehiya and Altın Otu Plants

Ekstraktlar	%DPPH Giderme Aktivitesi	Radikali Aktivitesi	Fosfomolibdenyum analizi	FRAP(abs.) FRAP(abs.)	CUPRAC (mg trolox equivalentg sample ⁻¹)	TEAC (Inhibition (%Inhibisyon) TEAC	TEAC (μM trolox equivalent 10g ⁻¹)
Extracts	%DPPH removal activity	radical	(μg TE g ⁻¹) Phosphomolybdenum analysis (μg TE g ⁻¹)		CUPRAC (mg trolox eşdeğeri g örnek ⁻¹)	TEAC (%Inhibisyon)	TEAC(μM trolox eşdeğeri 10g ⁻¹)
Molehiya <i>Molehiah</i>	76.976±0.79		0.60±0.04	1.28±0.05	130.95±4.21	14.35±0.23	19.32±0.17
Altın Otu <i>Golden grass</i>	73.064±0.93		1.06±0.21	1.43±0.08	88.60±2.43	-	4.71±0.09

Antioksidan bileşenler, gıda, kozmetik ve farmasötik ürünlerin bozulmasına neden olan lipid peroksidasyon sürecini geciktirerek serbest radikalleri süpürebilir ve raf ömrünü uzatabilir (Erdoğan ve Göde, 2022). Antioksidan aktivite, ekstraktların fenolik içeriğine, çoğunlukla fenolik asitlere ve flavonoidlere bağlıdır. Bu bileşikler, reaktif oksijen türlerinin oluşumunda yer alan enzimleri inhibe ederek veya eser elementleri şelatlayarak veya hidrojen atomu bağışı yoluyla yüksek derecede oksitleyici serbest radikalleri azaltarak etki gösterir (Vujic ve ark., 2020).

Sengun ve Gargı (2020), *Corchorus olitorius* bitkisinde en yüksek toplam fenolik madde miktarını etanol ekstraktında 24.61 mg GAE g⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Metanol ekstraktında toplam fenolik madde miktarı 21.14; su ekstraktında ise 9.86 mg GAE g⁻¹ olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, *C. olitorius*'un su, etanol ve metanol ekstraktları DPPH radikalini sırasıyla %17.50, %87.10 ve %86.00 oranında inhibe etmiştir. Araştırmacıların metanol ekstraktında DPPH radikalini giderme aktivitesi ile ilgili bulmuş olduğu bu değer (%86.00), Molehiya metanol ekstraktı DPPH radikalini giderme aktivitesi sonucumuzdan (%76.97) daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca araştırmacılar metanol ekstraktı için toplam fenolik madde miktarını mevcut çalışmadan daha yüksek bulmuşlardır.

Chigurupati ve ark., (2020) *Corchorus olitorius*'un metanol ekstraktlarında toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarını sırasıyla 0.3±0.07 mg GAE g⁻¹ ve

0.19±0.05 mg RUE g⁻¹ olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca, *C. olitorius*'un metanol ekstraktları DPPH radikalini yaklaşık %93-94 oranında inhibe etmiştir. Araştırmacıların sonucuna göre, toplam fenolik madde miktarı değeri sonucumuzla kıyaslandığında daha düşük bulunurken; DPPH radikalini giderme aktivitesinde ise daha yüksek sonuçlar elde etmişlerdir. *C. olitorius*'un farklı kısımlarında tıbbi açıdan önemli sekonder metabolitlerin varlığı, şeker hastalığı (Innami ve ark., 2005) dahil olmak üzere çeşitli sağlık bozukluklarının tedavisinde (Kute, 2017) kullanımını haklı çıkarmaktadır (Chigurupati ve ark., 2020).

Bitkilerde flavonoid içeriğinin en çok coğrafi ve iklimsel koşullar, genetik ve biyolojik çeşitlilik ve mevsimsel değişimler tarafından etkilendiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2003, Sparg ve ark., 2004; Biswas ve ark., 2020).

Oboh ve ark. (2009), *Corchorus olitorius*'un su ve hekzan ekstraktlarında C vitamini içeriğini araştırmışlar ve hekzan ekstraktında tespit edemezken; su ekstraktında ise 32.6 mg 100 g⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar, su ekstraktlarında toplam fenol içeriğini 630.8 mg 100g⁻¹ kuru ağırlık, hekzan ekstraktında ise 99.9 mg 100g⁻¹ kuru ağırlık olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca toplam flavonoid içeriklerini de inceledikleri bu çalışmada, su ekstraktı için bu değeri 227.8 mg 100g⁻¹ kuru ağırlık, hekzan ekstraktı için 54.0 mg 100g⁻¹ kuru ağırlık olarak bulmuşlardır.

Biswas ve ark. (2020), *Corchorus olitorius*'un etanol ekstraktlarında toplam flavonoid içeriğini

5.26 ile 13.66 mg RE g⁻¹ kuru ağırlık arasında; toplam fenolik madde içeriğini 5.41 ile 7.78 mg GAE g⁻¹ kuru ağırlık arasında; ABTS miktarını 102.13 ile 149.90 mmol trolox g⁻¹ ekstrakt arasında tespit etmişlerdir. Ayrıca yüksek ABTS radikal yakalama aktivitesinin fenolik bileşiklerin varlığından kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Hagerman ve ark., 1998).

Yan ve ark. (2013), *Corchorus olitorius*'dan % 80 sulu aseton kullanarak ekstre elde etmişlerdir. Bu ekstrede toplam fenolik madde miktarını tüm bitki, yaprak ve kök de sırasıyla 289.18, 244.18 ve 281.33 mg GAE g⁻¹ kuru ağırlık olarak tespit etmişlerdir. Toplam flavonoid içeriğini ise yine sırasıyla 132.13, 169.34 ve 46.15 mg QE g⁻¹ kuru ağırlık olarak belirlemişlerdir.

Gültekin (2020), *Helichrysum arenarium* (L.) Moench (Adıyaman, Akdağ, Tut bölgesinden toplanmış) etanol ekstresinde DPPH süpürme yeteneğini %52-82 aralığında tespit etmiştir. Bu bitkinin etanol ekstresinde toplam fenol içeriğini ise 26.16 mg g⁻¹ olarak belirlemiştir. Tepe ve ark. (2005), Sivas bölgesinden temin ettikleri *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türünün metanol ekstralarında DPPH serbest radikali % süpürme oranını maksimum % 57-58 oranında belirlemişlerdir. Özgen ve ark. (2004), Kars Karakale bölgesinden temin ettikleri *Helichrysum arenarium* türünün metanol ekstresinde 250 ppmlik konsantrasyonda %58.6 oranında süpürme oranı belirlemişlerdir (Gültekin, 2020). DPPH radikalini giderme ile ilgili bulunan bu değerler, çalışmamızın sonuçlarından daha düşük bulunmuştur. DPPH kararlı bir serbest radikaldir ve maksimum absorpsiyonu 517 nm'de meydana gelmekle birlikte, bir ekstraktın DPPH tüketim oranı ne kadar yüksek olursa antioksidan potansiyeli de o kadar güçlü olur.

Kaya (2022), Altın otu bitkisinin farklı çözücü ekstraktlarını elde etmiş ve bu ekstraktları karşılaştırdığında en yüksek CUPRAC indirgeme kapasitesinin su ekstresinde, en düşük indirgeme kapasitesinin ise hekzan ekstresinde olduğunu gözlemlemiştir. Yine, bitkinin farklı çözücü ekstraktları ile karşılaştırdığında en yüksek ABTS radikali giderme aktivitesini etanol ekstresinde (%)

75.3) belirlemiş; diğer çözücüler ile hazırlanan bitki ekstraktlarında ise standart antioksidanlardan daha düşük radikal giderme aktivitesi gösterdiğini belirtmiştir. Bitkinin farklı çözücü ekstraktları ile karşılaştırdığında DPPH radikali giderme aktivitesini, en yüksek (% 62.4) su ekstresinde belirlemiştir.

Stankov ve ark. (2020), *H. arenarium* (L.) Moench'den %70'lik ekstrakt elde etmişler ve elde ettikleri bu ekstraktın CUPRAC metoduyla antioksidan değerini 159.46 mM TE/g olarak tespit etmişlerdir. Kulisic-Bilusic ve ark.(2008), *H. arenarium*'un sulu ekstraktında DPPH inhibisyonunun %90-100 arasında bir değere sahip olduğunu bildirmişlerdir (Umaz ve ark., 2023).

Albayrak ve ark. (2010a), *H. armenium subsp. araxinum*, *H. arenarium subsp. erzincanicum*, and *H. plicatum subsp. Pseudoplicatum*'un metanol ekstralarında serbest radikal yakalama aktivitelerini sırasıyla %85.86, %81.45 ve %79.59 olarak tespit etmişlerdir. Toplam fenolik içeriklerinin ise 71.81-144.50 mg GAE g⁻¹ olduğunu belirtmişlerdir.

Babota ve ark. (2018), *Helichrysum arenarium* (L.) türü için farklı solventler kullanarak toplam fenolik madde içeriğini araştırmışlar ve toplam fenolik içerik açısından en yüksek değerleri ekstraksiyon solventi olarak %70 (v/v) etanol kullanarak elde ettiklerini ifade etmişlerdir.

Hem Altın otu hem de Molehiya metanol ekstraktları ile ilgili yapmış olduğumuz bu çalışma sonuçları literatür ile karşılaştırıldığında benzerlikler ve farklılıklar tespit edilmiştir. Bu farklılıkların nedeninin, kullanılan çözücünün farklılığı, ekstraksiyon yönteminin farklılığı, bitki kısımlarının farklılığı, tarımsal proses farklılığı, ışık, iklim, hasat zamanı, depolama şartları, bitkinin toplandığı bölgenin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Molehiya ve Altın Otu bitkilerinin metanol ekstraktlarının fenolik bileşen içerikleri

Molehiya ve Altın Otu bitkilerinin metanol ekstraktlarının fenolik bileşenleri Çizelge 3.'de verilmiştir.

Fenolik bileşen miktarları toplamı, Altın otu

metanol ekstresi ($110.866,394 \text{ mg kg}^{-1}$) > Molehiya metanol ekstresi ($39.803,77 \text{ mg/kg}$) şeklinde tespit edilmiştir.

Altın otu metanol ekstraktında hidroksibenzoik asitler (vanilin, vanilik asit, 4-Hidroksibenzoik asit ve prokateşik asit etil ester) tespit edilirken, Molehiya metanol ekstresinde ise bu asitlerden sadece prokateşik asit etil ester tespit edilmiştir. Hidroksinamik asitlerden (o-kumarik asit, t-ferulik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, klorojenik asit, 3-Hidroksinamik asit, rosmarinik asit, salisilik asit, t-sinamik asit, gentisik asit, sinapik asit) klorojenik asit ve 3-Hidroksinamik asit Molehiya metanol ekstraktında Altın otu metanol ekstraktından daha yüksek tespit edilmiştir. Diğer hidroksinamik asitler ise altın otu metanol ekstraktında daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca Molehiya metanol ekstraktında kafeik, p-kumarik, salisilik, gentisik ve sinapik asitler tespit edilememiştir. Hidroksinamik asitlerden t-ferulik asit, Altın otu metanol ekstraktında yüksek miktarda ($7287.10 \text{ mg kg}^{-1}$) tespit edilirken; klorojenik asit ise Molehiya metanol ekstraktında yüksek miktarda ($10093.6 \text{ mg kg}^{-1}$) tespit edilmiştir. Sonuçlarımıza göre, Altın otu metanol ekstraktının hidroksinamik asitler açısından Molehiya metanol ekstraktına göre daha yüksek bulunduğunu söylemek mümkündür. Flavon-3-ollerden (kateşin hidrat, kurkumin ve kateşin) kateşin Molehiya metanol ekstraktında $12292.4 \text{ mg kg}^{-1}$ olarak tespit edilirken; Altın otu metanol ekstraktında ise kateşin dâhil flavon-3-oller tespit edilememiştir. Flavanonlardan (narinjin, narinjenin ve hesperidin) narinjin Altın otu metanol ekstraktında $73620.9 \text{ mg kg}^{-1}$, Molehiya ekstraktında ise $12625.5 \text{ mg kg}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir. Yine narinjenin ve hesperidin de altın otu metanol ekstraktında daha yüksek bulunmuştur. Fenolik bileşenlerden flavonoller (rutin, hiperosit, kuersetin ve izokuersitrin) rutin ve hiperosit Altın otu metanol ekstraktında tespit edilirken; Molehiya metanol ekstraktında tespit edilememiştir. Kuersetin ve izokuersitrin ise Altın otu metanol ekstraktında

tespit edilemezken, Molehiya metanol ekstraktında tespit edilmiştir. Flavonlardan (krisin, flavonlar, 6-hidroksiflavon ve baikalin) krisin, flavonlar ve 6-hidroksiflavon Molehiya metanol ekstraktında tespit edilmemişken; baikalin ise Altın otu metanol ekstraktında tespit edilememiştir. Ayrıca bu çalışmada, stilbenoidler ile sekoiridoidler de tespit edilmeye çalışılmış ancak bu bileşiklere her iki bitkinin metanol ekstraktlarında da rastlanamamıştır.

Helichrysum arenarium (L.) (Altın otu) içerisinde eterik yağ flavonlar ve flavon glikozitleri, sterinler, acı maddeler ve çeşitli tanenler ile kumarinler tespit edilmiştir. Czinner ve ark. (2000), yaptıkları çalışmada fenolikler ile flavanoidlerin varlığını ve bunların antioksidan özellik gösterdiğini tespit etmişlerdir (Şen ve Kalaycı, 2016). Albayrak ve ark. (2010b) *Helichrysum arenarium* (L.) Moench türünün metanol ekstresinde fenolik içeriğini; $99 \mu\text{g g}^{-1}$ apigenin-7-glukozid, $89.9 \mu\text{g g}^{-1}$ klorojenik asit, $27.5 \mu\text{g g}^{-1}$ apigenin, $9.16 \mu\text{g g}^{-1}$ naringenin $4.54 \mu\text{g g}^{-1}$ luteolin ve küçük miktarlarda kumarik asit, resveratrol, kafeik asit olarak belirlemişlerdir. Albayrak ve ark. (2010a), *H. Arenarium subsp. erzincanicum*, *H. arenarium subsp. rubicundum* veya *H. armenium subsp. Araxinum* ekstraktlarında bulunan başlıca fenolik bileşenin klorojenik asit, ardından apigenin-7-glukozit ve apigenin olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca test edilen ekstraktların hiçbirinde gallik asit, kateşin, rutin, akasetin, eriodiktyol, kuersetin ve rosmarinik asit tespit edilememiştir. Sato ve ark. (2011), klorojenik asidin yüksek antioksidan kapasitesinin olduğunu belirtmişlerdir. Yamagata ve ark. (2018), A549 kodlu insan akciğer kanseri hücrelerinde klorojenik asidin apoptoz ve gen ekspresyonunu düzenlediğini bildirmişlerdir (Gültekin, 2020). Yan ve ark. (2003), çalışmalarında yüksek miktarlarda klorojenik asit, mirisetin ve minör kuersetin bulduklarını ve bu durumun da bitki çeşidinin fenolik bileşimde önemli bir rol oynadığını gösterdiğini belirtmişlerdir.

Çizelge 3. Molehiya ve Altın Otu bitkilerinin metanol ekstraktlarının fenolik bileşenleri
Table 3. Phenolic compounds of methanol extracts of Molehiah and Golden Grass plants

Fenolik Bileşikler <i>Phenolic compounds</i>	Molehiya (mg kg⁻¹) <i>Molehiah</i> <i>(mg kg⁻¹)</i>	Altın Otu (mg kg⁻¹) <i>Golden Grass</i> <i>(mg kg⁻¹)</i>
Fenolik Asitler <i>Phenolic Acids</i>		
Hidroksibenzoik asitler (mg kg⁻¹) <i>Hydroxybenzoic acids (mg kg⁻¹)</i>		
Vanilin <i>Vanillin</i>	t.e./n.d.	124.43
Vanilik asit <i>Vanilic acid</i>	t.e./n.d.	1129.45
4-Hidroksibenzoik asit <i>4-Hydroxybenzoic acid</i>	t.e./n.d.	336.79
Prokateşik asit etil ester <i>Procatetic acid ethyl ester</i>	213.31	731.01
Hidroksinamik asitler (mg kg⁻¹) <i>Hydroxinnamic acids (mg kg⁻¹)</i>		
o-kumarik asit <i>o-cumaric acid</i>	102.85	2300.96
t-Ferulik asit <i>t-ferulic acid</i>	19.38	7287.10
Kafeik asit <i>Caffeic acid</i>	t.e./n.d.	910.79
p-kumarik asit <i>p-cumaric acid</i>	t.e./n.d.	t.e./n.d.
Klorojenik asit <i>Chlorogenic acid</i>	10093.6	5347.73
3-Hidroksinamik asit <i>3-Hydroxycinnamic acid</i>	67.75	t.e./n.d.
Rosmarinik asit <i>Rosmarinic acid</i>	102.25	349.94
Salisilik asit <i>Salicylic acid</i>	t.e./n.d.	63.64
t-sinamik asit <i>t-sinamic acid</i>	61.75	1706.38
Gentisik asit <i>Gentisic acid</i>	t.e./n.d.	579.35
Sinapik asit <i>Sinapic acid</i>	t.e./n.d.	4917.79
Flavonoidler <i>Flavonoids</i>		
Flavon-3-oller(mg kg⁻¹) <i>Flavon-3-olls(mg kg⁻¹)</i>		
Kateşin hidrat <i>Catechin hydrate</i>	t.e./n.d.	t.e./n.d.
Kurkumin <i>Curcumin</i>	t.e./n.d.	t.e. /n.d.
Kateşin <i>Catechin</i>	12292.4	t.e/n.d.
Flavanonlar (mg kg⁻¹) <i>Flavanons(mg kg⁻¹)</i>		

Narinjin	12625.5	73620.9	t.e:
<i>Naringine</i>			<i>Tespit</i>
Narinjenin	97.98	5881.73	
<i>Naringenine</i>			
Hesperidin	5.68	1437.31	
<i>Hesperidine</i>			
Flavonoller (mg kg⁻¹)			
<i>Flavonolls(mg kg⁻¹)</i>			
Rutin	t.e./n.d.	2513.22	
<i>Rutin</i>			
Hiperosit	t.e./n.d.	911.69	
<i>Hyperocyte</i>			
Kuersetin	119.86	t.e./n.d.	
<i>Quercetine</i>			
Izokuersitrin	3943.32	t.e./n.d.	
<i>Isoquercetin</i>			
Flavonlar (mg kg⁻¹)			
<i>Flavons(mg kg⁻¹)</i>			
Krisin	t.e./n.d.	185.66	
<i>Krisin</i>			
Flavonlar	t.e./n.d.	408.24	
<i>Flavons</i>			
6-hidroksiflavon	t.e./n.d.	122.32	
<i>6-hydroxyflavone</i>			
Baikalın	57.93	t.e./n.d.	
<i>Baicalin</i>			
Stilbenoidler (mg kg⁻¹)			
<i>Stilbenoids(mg kg⁻¹)</i>			
Resveratrol	t.e./n.d.	t.e./n.d.	
Resveratrol			
Sekoiridoidler (mg kg⁻¹)			
<i>Secoiridoids (mg kg⁻¹)</i>			
Oleuropein	t.e./n.d.	t.e./n.d.	
<i>Oleuropein</i>			

edilemedi. (Fenolik Bileşen Toplamı: Altın Otu: 110866.394 mg kg⁻¹; Molehiya: 39803.77 mg kg⁻¹)

n.d.:not detected. (Total Phenolic Component: Golden Grass: 110866.394 mg kg⁻¹; Molehiya: 39803.77 mg kg⁻¹)

Molehiya ve Altın Otu bitkilerinin metanol ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri

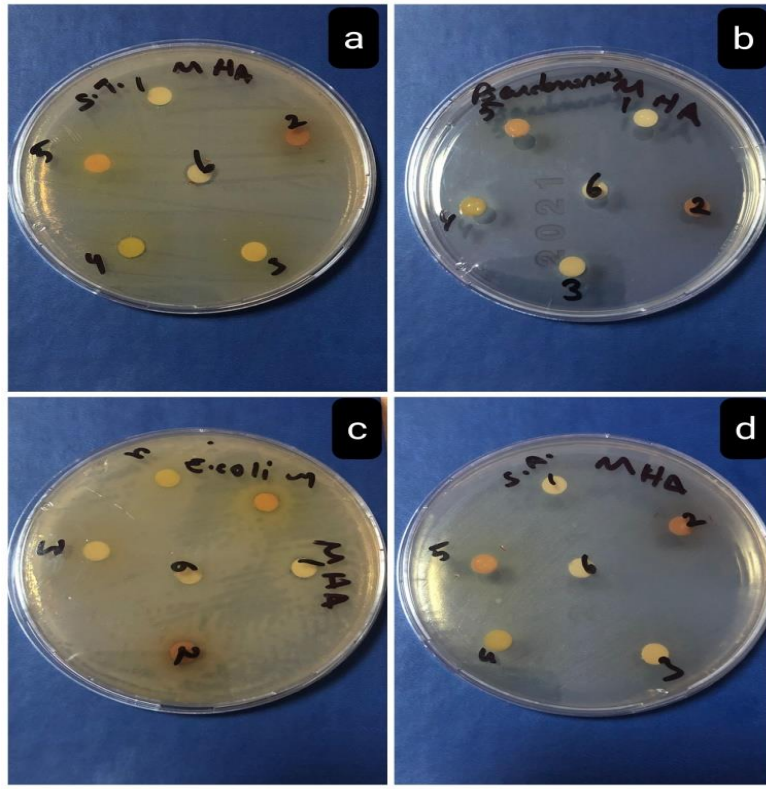
Ekstraktların antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesinde numaralandırmalar Molehiya (4) ve Altın Otu (5) şeklindedir (Şekil 2.)

Ekstraktların antibakteriyel aktiviteleri *E. coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027'ye karşı test edilmiştir (Çizelge 4)(Şekil 2).

E. coli ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027'ye karşı özütlerde herhangi bir inhibitör etkiye rastlanmazken; *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibitör etki Altın otu ve Molehiya metanol

ekstraktlarında gözlenmiş ve zon çapları sırasıyla 12 ve 9 mm olarak ölçülmüştür. (Şekil 1). Negatif kontrol olarak konsantre metanol kullanılmış ve metanolün izolatlar üzerinde antibakteriyel aktivitesine rastlanmamıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 için pozitif kontrol olarak kullanılan standart antibiyotik Polimiksin B'nin inhibisyon zonu 17 mm'dir.

E. coli ATCC 25922, *Salmonella typhimurium* ve *Staphylococcus aureus* için pozitif kontrol olarak tetrasiklin antibiyotiği kullanılmış ve inhibisyon zonları ise sırasıyla 20, 17 ve 18 mm olarak ölçülmüştür.



Şekil 2. Bitki ekstraktlarının antimikrobiyel aktivitesi **a.** Bitkilerin metanol ekstraktlarının *Salmonella typhimurium* üzerindeki antimikrobiyel etkisi **b.** Bitkilerin metanol ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 üzerindeki antimikrobiyel etkisi **c.** Bitkilerin metanol ekstraktlarının *E. coli* üzerindeki antimikrobiyel etkisi **d.** Bitkilerin metanol ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerindeki antimikrobiyel etkisi

Figure 2. Antimicrobial activity of plant extracts **a.** Antimicrobial effect of methanol extracts of plants on *Salmonella typhimurium*. **b.** Antimicrobial effect of methanol extracts of plants on *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027. **c.** Antimicrobial effect of methanol extracts of plants on *E. coli* **d.** Antimicrobial effect of methanol extracts of plants on *Staphylococcus aureus*

İlhan ve ark. (2007), *Corchorus olitorius* L. (Molehiya)'nin petrol eteri ve metanol ekstraktları ile yapmış oldukları çalışmalarında, metanol ekstraktlarında *Escherichia coli* ATCC 25922 için antibakteriyel aktiviteyi inhibisyon zonu olarak sırasıyla 20 ve 10 mm olarak ölçmüşlerdir. *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 için metanol ekstraktlarında zon çapı tespit edememişken, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 için inhibisyon zonunu petrol eteri ve metanol ekstraktlarında sırasıyla 19 ve 18 mm olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar etil asetat+su ekstraktlarında *Escherichia coli* ATCC 25922 için zon çapı tespit edemezken, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 için sırasıyla zon çaplarını 15 ve 19 mm olarak tespit etmişlerdir.

Yine bu çalışmada, hidroksisinnamik asitlerin gram pozitif bakteriler üzerinde inhibitör etkisinin olduğu söylenmiştir. Çalışmamızın da sonuçlarına bakıldığında, hidroksisinnamik asitlerin altın otu metanol ekstraktlarında molehiye metanol ekstraktlarına göre daha yüksek olduğu görülmekte olup, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 için ölçülen 12 ve 9 mm inhibisyon zonlarının bu asitlerden geldiğini söylemek mümkündür. Ayrıca araştırmacıların yapmış oldukları çalışmadan farklı olarak, çalışmamızda *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 ve *Escherichia coli* ATCC 25922 için inhibisyon zonu tespit edilememesinin nedeninin kullanılan ekstraksiyon ve çözücülerin farklı olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4. Altın otu ve molehiya bitkilerinin metanol ekstraktlarının inhibisyon zon çapları (mm)

Table 4. Inhibition zone diameters of methanol extracts of Golden grass and Molehiya plants (mm)

Test edilen mikroorganizmalar	Altın Metanol Ekstraktı	Otu Metanol Ekstraktı	Molehiya Metanol Ekstraktı	Metanol (NK)	Tetrasiklin (PK)	PolimiksinB (PK)	Metisillin (PK)
<i>Tested microorganisms</i>	<i>Golden methanol extract</i>	<i>Grass methanol extract</i>	<i>Molehiya methanol extract</i>	<i>Methanol (NK)</i>	<i>Tetracycline (PK)</i>	<i>PolymyxinB (PK)</i>	<i>Methicillin(PK)</i>
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	-	20		
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	-	-	-	-	17		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	12		9	-	-		18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-		17	

(-): Test edilen mikroorganizmalara karşı inhibisyon zonu gözlenmemiştir. PK: Pozitif kontrol, NK: Negatif kontrol

(-): No zone of inhibition was observed against the tested microorganisms. PK: Positive control, NK: Negative control

Nakaziba ve ark., (2022) *Corchorus olitorius*'un ham yaprak metanol ekstraktlarında inhibisyon zonunu *E.coli* ve *S.aureus* için sırasıyla 9.50 ve 11.00 mm olarak ölçmüşlerdir. Sümengen Özdenefe ve ark. (2018), *Corchorus olitorius*'un metanol, etanol ve kloroform ekstrelerinin tüm yaprak örneklerinde kullanılan tüm bakteri ve mantar türlerine karşı antibakteriyel ve antifungal aktivite tespit edemediklerini söylemişlerdir. Araştırmacılar, *S.aureus* için zon çapını 100 mg mL⁻¹ hekzan ekstraktında 12 mm olarak ölçmüşlerdir. Yine araştırmacılar, *S.aureus* için idrar yolu enfeksiyonları, gıda zehirlenmeleri, abseler ve solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan bir bakteri olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma sonucu ile benzer şekilde *S.aureus*'da gözlenen bu antibakteriyel aktivite kullandığımız bitki ekstraktlarının da tıbbi bitkilerle tedavi için kullanılabileceğini göstermektedir.

Sonuç ve öneriler

Serbest radikalların hem yaşlanmayı hızlandırdığı hem de hastalıkların neredeyse çoğunun ana etmeni olduğu bilinen bir gerçektir. Bu sebepten ötürü sentetik antioksidanlar yerine doğal antioksidanların önemi her geçen gün artmaktadır. Bu çalışmada da, Güneydoğu Anadolu bölgesinde gerek yemek yapımı gerekse tedavi amaçlı yaygın kullanım alanı bulan Altın otu ve

Molehiya bitkilerinin metanol ekstraktları elde edilerek; bu ekstraktların fitokimyasal içerikleri ve antioksidan kapasiteleri ile fenolik bileşen içerikleri ve antibakteriyel özellikleri araştırılmıştır. Araştırmamızın sonuçlarına göre her iki bitkinin de metanol ekstraktlarının antioksidan içeriğe sahip oldukları ve fitokimyasal açıdan zengin bileşime sahip oldukları açığa çıkmıştır. Ayrıca bu bitkilerin fenolik bileşen içeriklerinin de yüksek olmasından dolayı bu bitkilerin önem taşıdıkları sonucuna varılmıştır. Özellikle klorojenik asidin Molehiya metanol ekstresinde yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, *S.aureus*'da gözlenen antibakteriyel aktivite kullandığımız bitki ekstraktlarının tıbbi bitkilerle tedavi için kullanılabileceğini göstermektedir. Gıda ve tıbbi açıdan önemli bulunan bu bitkilerin ülkemize kazanımının sağlanması ve bu bitkilerle ilgili yapılacak diğer çalışmalara da zemin hazırlaması çalışmamızın önemini göstermektedir. Bu nedenle bu bitkilerin gıda, sağlık ve farmakoloji için yararlı olabileceği sonucuna varılabilir. Bir sonraki çalışmada mevcut bitkilerin in vivo araştırılması hedeflenebilir.

Teşekkür

Kilis 7 Aralık Üniversitesi'ne laboratuvar imkanlarını sundukları için teşekkür ederiz. Ayrıca makalemizin inceleme ve değerlendirme

aşamasında yapmış oldukları katkılardan dolayı editör ve hakem/hakemlere teşekkür ederiz.

Çıkar çatışması beyanı: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Yazar katkısı: Filiz UÇAN TÜRKMEN; Çalışmayı tasarlayıp, yürütmüş, verileri analiz etmiş ve makaleyi yazmıştır. Kibar YAPICI ve Elife OSMAN: Antioksidan analizlerin yapılmasına katkıda bulunmuşlardır. Gülcan KOYUNCU; Antioksidan analizlerinin yapılmasında ve ayrıca makalenin okunması, incelenmesi ve düzeltmelerin yapılmasında katkıda bulunmuştur. Ümit Haydar EROL: Fenolik bileşen analizinin yapılmasında katkıda bulunmuştur.

Kaynaklar

- Acıbuca, V., & Budak, D. B. (2018). Dünya’da ve Türkiye’de tıbbi ve aromatik bitkilerin yeri ve önemi. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(1), 37-44.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., & Hamzaoglu, G., (2010a). Türkiye’den toplanan *Helichrysum* (Asteraceae) türlerinin bileşimleri, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri. *Food Chemistry*, 119(1), 114-122.
- Albayrak, S., Aksoy, A., Sağdıç, O., & Budak, Ü. (2010b). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia. Turkey. *Turkish Journal of Biology*, 34(4), 463-473.
- Aydin, S., Yilmaz, O., & Gokce, Z. (2015). Protective effect of *Morus nigra* L.(mulberry) fruit extract on the liver fatty acid profile of Wistar rats. *Pakistan J Zool*, 47(1), 255-261.
- Babotă, M., Mocan, A., Vlase, L., Crişan, O., Ielciu, I., Gheldiu, A. M., ... & Păltinean, R. (2018). Phytochemical analysis, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. flowers. *Molecules*, 23(2), 409.
- Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. & Turck, M. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disk Method. *American Journal of Clinical Pathology*. 45, 493-6. Doi:10.1093/ajcp/45.4_ts.493.
- Baltacı, N., Aydogdu, N., Sarikurkcu, C., & Tepe, B. (2021). *Onosma gracilis* (Trautv.) and *O. oreodoxa* (Boiss. & Heldr.): Phytochemistry, in silico docking, antioxidant and enzyme inhibitory activities. *South African Journal of Botany*, 143, 410-417.
- Biswas, A., Dey, S., Li, D., Yiu, L., Zhang, J., Huang, S., Pan, G., & Deng, Y. (2020). Comparison of phytochemical profile, mineral content, and in vitro antioxidant activities of *Corchorus capsularis* and *Corchorus olitorius* leaf extracts from different populations. *Journal of Food Quality*, 2020, 1-14.
- Chigurupati, S., Aladhadh, H.S., Alhowail, A., Selvarajan, K.K., & Bhatia, S. (2020). Phytochemical composition, antioxidant and antidiabetic potential of methanolic extract from *Corchorus olitorius* Linn. grown in Saudi Arabia. *Medicinal Plants-International Journal of Phytomedicines and Related Industries*, 12(1), 71-76.
- Czinner E., Hagymasi K., Blazovic A., Kery A., Szoke E., & Lemberkovics, E. (2000). In vitro antioxidant properties of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. *J Ethnopharmacol* 73, 437-443.
- Erdem, S. & Eren, P.A. (2009). Tedavi amacıyla kullanılan bitkiler ve bitkisel ürünlerin yan etkileri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66: 3, 133-141.
- Erdoğan, K.G. & Göde F. (2022). Altın otu (*Helichrysum italicum*) esansiyel yağının mikrokapsüle edilmesi ve karakterizasyonu. *Ege Univ. Ziraat Fak. Derg.*, 59 (4): 669-684.
- Gültekin, M. (2020). Adıyaman Akdağ (Tut-Erkenek) bölgesinden toplanan bazı bitkilerin antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler biyoloji ve genetik anabilim dalı, Yüksek Lisans Tezi, 62s.
- Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., & Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(5), 1887-1892.
- Innami S, Ishida H, Nakamura K, Kondo M, Tabata K, Koguchi T, Shimizu J and Furusho T. (2005). Jew’s mellow leaves (*Corchorus olitorius*) suppress elevation of postprandial blood glucose levels in rats and humans. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 75, 39-46.
- Ilhan, S., Savaroğlu, F., & Çolak, F. (2007). Antibacterial and Antifungal Activity of *Corchorus olitorius* L. (Molokhia) Extracts. *International Journal of Natural & Engineering Sciences*, 1(3).
- Kaya, E. (2022). *Helichrysum plicatum* çiçeklerinin su, etanol, aseton, kloroform ve hekzan ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), 840-849.
- Kuete, V. (2017). Medicinal Spices and vegetables from Africa, 1st edition therapeutic potential against metabolic, inflammatory, infectious and systemic diseases. *Academic Press*.
- Kulisic-Bilusic T, Katalinic V, Dragovic-Uzelac V, Ljubenkov I, Krisko A, Dejanovic B (2008). Antioxidant and acetylcholinesterase inhibiting activity of several aqueous tea infusions in vitro. *Food Technol Biotechnol*. 46(4):368-75.
- Liu, X., Jing, X., & Li, G., (2019). A Process to acquire essential oil by distillation concatenated liquid-liquid extraction and flavonoids by solid-liquid extraction simultaneously from *Helichrysum arenarium* (L.) Moench inflorescences under ionic liquid-microwave mediated. *Separation and Purification Technology*, 209, 164-174.
- Mao, Z., Gan, C., Zhu, J., Ma, N., Wu, L., Wang, L., & Wang, X., (2017). Anti-atherosclerotic Activities of Flavonoids from the Flowers of *Helichrysum arenarium* L. Moench through the Pathway of

- Antiinflammation. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 27(12), 2812–2817.
- Mizzi, L., Chatzitzika, C., Gatt, R., & Valdramidis, V. (2020). HPLC analysis of phenolic compounds and flavonoids with overlapping peaks. *Food technology and biotechnology*, 58(1), 12-19.
- Mradu, G., Saumyakanti, S., Sohini, M., & Arup, M. (2012). HPLC profiles of standard phenolic compounds present in medicinal plants. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 4(3), 162-167.
- Nakaziba, R., Lubega, A., Ogwal-Okeng, J., & Alele, P. E. (2022). Phytochemical analysis, acute toxicity, as well as antihyperglycemic and antidiabetic activities of *Corchorus olitorius* L. leaf extracts. *The Scientific World Journal*, 1376817. <https://doi.org/10.1155/2022/1376817>.
- Ndlovu, J., & Afolayan, A.J. (2008). Nutritional analysis of the South African wild vegetable *Corchorus olitorius* L. *Asian J PlantSci*, 7(6), 615-618. <https://doi.org/10.3923/ajps.2008.615.618>.
- Oboh, G., Raddatz, H., & Henle, T. (2009). Characterization of the antioxidant properties of hydrophilic and lipophilic extracts of Jute (*Corchorus olitorius*) leaf. *International journal of food sciences and nutrition*, 60(sup2), 124-134.
- Orieke, D., Ohaeri, O.C., Ijeh, I.I., & Ijioma, S.N. (2018). Identification of phytocomponents and acute toxicity evaluation of *Corchorus olitorius* leaf extract. *European Journal of Medicinal Plants*, 1-16. <https://doi.org/10.9734/EJMP/2018/38739>.
- Özdenefe, M. S., Muhammed, A., Süer, K., Güler, E., Aysun, H., & Takci, M. (2018). Determination of antimicrobial activity of *Corchorus olitorius* leaf extracts. *Cyprus Journal of Medical Sciences*, 3, 159-164.
- Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Coflkun, M., & Ali, Y. (2004). Antioxidant activities and total phenolic compounds amount of some Asteraceae species. *Turkish J. Pharm. Sci*, 1(3), 203-216.
- Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M., & Iseki, K., (2011). In vitro and In vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 403(1-2), 136-138.
- Şen, N., & Kalaycı, G. (2016). Altın otu bitkisinden (*Helichrysum arenarium*) tanen ve kumarinin kimyasal kompozisyonu. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42(2), 226-231.
- Sparg, S. G., M. E. Light, & J. van Staden, (2004). Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 94, no. 2-3, pp. 219–243.
- Stankov S, Fidan H, Petkova N. 2020. Phytochemical composition of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench essential oil (aerial parts) from Turkey. *Ukrainian Food J*. 9(3):503–512.
- Tepe, B., Sokmen, M., Askin Akpulat, H., & Sokmen, A., (2005). In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. *Food Chemistry*, 90(4), 685–689.
- Tuncer, B., & Ummuhan, F. (2017). Molehiya (*Corchorus olitorius* L.) tohumlarındaki dormansi probleminin çözümüne yönelik araştırma. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4(3), 268-274.
- Umaz, A., & Umaz, K., (2020). İki farklı lokasyona ait altın otunun (*Helichrysum arenarium*) uçucu bileşenlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(3), 592-600.
- Umaz, A., Umaz, K., Aydın, F., & Aydın, I. (2023). Determination of multi-elemental analysis and antioxidant activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench species. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 43(2), 128-141.
- Uçan Türkmen, F., & Mercimek Takci, H. A. (2018). Ultraviolet-C and ultraviolet-B lights effect on black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus*) juice. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 1038-1046.
- Uçan Türkmen, F., Sarıgüllü Önalın, F. E., & Mercimek Takci, H. A. (2022). Nar kabuklarının su ve metanol ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin incelenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 11(2), 363-372.
- Uçan Türkmen, F., Mercimek Takci, H. A. & Sarıgüllü Önalın, F. E. (2020). Evaluation of antioxidant activity of sour cherry stalk extracts by in vitro methods. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 10(2), 290-301.
- Ürüşan, Z., Hasan, E.R., Sinan, A., Meral, R., & Koçyiğit, S. (2022). Determination of chemical compositions of two different Jute (*Corchorus capsularis*, *Corchorus olitorius*) species grown in Türkiye's ecological conditions via GC-MS technique. *Akademik Ziraat Dergisi*, 11(1), 117-124.
- Vujić, B., Vidaković, V., Jadranin, M., Novaković, I., Trifunović, S., Tešević, V., & Mandić, B. (2020). Composition, antioxidant potential, and antimicrobial activity of *Helichrysum plicatum* DC. various extracts. *Plants*, 9(3), 337.
- Yan, Y. Y., Wang, Y. W., Chen, S. L., Zhuang, S. R., & Wang, C. K. (2013). Anti-inflammatory effects of phenolic crude extracts from five fractions of *Corchorus Olitorius* L. *Food chemistry*, 138(2-3), 1008-1014.
- Yücel Şengün, İ., & Gargi, A. (2020). Comparative study of total phenolic contents, antioxidant and antimicrobial activities of different extracts of *Corchorus olitorius* L. growing in North Cyprus. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 13(3), 298-304.
- Wang, S. Y. J. A. Bunce, & J. L. Maas, (2003). Elevated carbon dioxide increases contents of antioxidant compounds in fieldgrown strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(15), 4315-4320.
- Yamagata, K., Izawa, Y., Onodera, D., & Tagami, M., (2018). Chlorogenic acid regulates apoptosis and stem cell marker-related gene expression in A549 human lung cancer cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 9(19), 441.
- Zengin, G., Sarikurkcı, C., Aktumsek, A., Ceylan, R., & Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251



Kekik, lavanta ve tıbbi naneden elde edilen hidrosollerin gilaburu fermantasyonu ve gilaburu suyuna etkileri

Effects of hydrosols from thyme, lavender and medicinal mint on gilaburu fermentation and gilaburu juice

Fahriye YEŞİLBAŞ¹, Melike Şeyma KAHRAMAN², Şuheda AKBAŞ³, Serap BERKTAŞ^{4*}, Mustafa ÇAM⁵

^{1,2,3,4,5}Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri, Türkiye

¹<https://orcid.org/0009-0005-3309-9398>; ²<https://orcid.org/0009-0006-1018-3076>; ³<https://orcid.org/0009-0006-8152-064X>; ⁴<https://orcid.org/0000-0002-5195-0685>; ⁵<https://orcid.org/0000-0003-1258-0834>

To cite this article:

Yeşilbaş, F., Kahraman, M. Ş., Akbaş, Ş., Berktaş, S. & Çam, M. (2024). kekik, lavanta ve tıbbi naneden elde edilen hidrosollerin gilaburu fermantasyonu ve gilaburu suyuna etkileri. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 146-164
DOI: 10.29050/harranziraat.1340763

*Address for Correspondence:

Serap BERKTAŞ
e-mail:
berktaserap@gmail.com

Received Date:

10.08.2023

Accepted Date:

11.02.2024

Öz

Gilaburu suyu gilaburu meyvesinin (*Viburnum opulus* L.) laktik asit bakterileri ile doğal olarak fermantasyonu sonucu üretilen geleneksel bir fermente içecektir. Meyvenin taze olarak tüketimini sınırlandıran kendine özgü buruk ve acımsı tadı fermantasyon, ısı işlem gibi uygulamalar sonrası azaltılabilmektedir. Ancak meyve ve bundan elde edilen gilaburu suyunun duyuşal karakterini etkileyip tüketimini sınırlandıran buruk ve acı tadın tamamen uzaklaştırılması mümkün olmamaktadır. Bu çalışmada gilaburu meyvesinin buruk ve acı tadını azaltmak ve biyoaktif ve duyuşal özellikleri geliştirilmiş gilaburu suyu elde etmek amacıyla hidrodistilasyon atık ürünü olan hidrosol kullanılarak fermantasyon gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, kekik, lavanta ve tıbbi nane hidrosolleri %20, %40, %60, %80 ve %100 (v/v) oranlarında gilaburu fermantasyonu ortamına dahil edilerek 4 ay süre ile geleneksel yöntemle fermantasyon gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon boyunca fermente gilaburu suları ve fermantasyon ortamındaki hidrosoller toplanarak örneklerin pH, asitlik, renk, bulanıklık, fenolik madde, flavonoid madde, hidrolize tanen, antosiyanin ve antioksidan aktivite değerleri belirlenerek duyuşal analizleri gerçekleştirilmiştir. Hidrosol ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($p<0.05$) daha yüksek antioksidan aktivite değerine ($19-30$ mg TE 100 ml⁻¹) sahip olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, hidrosol ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinde burukluğun duyuşal olarak kontrol grubuna göre daha az algılandığı belirlenmiştir. Bu çalışma ile hem uçucu yağ eldesinden kalan bir atık ürünü değerlendirilmiş hem de son ürün biyoaktif özelliklerinde gelişmeler sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Gilaburu, Hidrosol, Hidrodistilasyon, Fermantasyon, Atık ürün

ABSTRACT

Fermented gilaburu juice is a traditional fermented beverage produced by natural fermentation of gilaburu fruit (*Viburnum opulus* L.) with lactic acid bacteria. The distinctive astringent and bitter taste of the fruit, which limits its fresh consumption, can be reduced after applications such as fermentation and heat treatment. However, it is not possible to completely remove the astringent and bitter taste that may affect the sensory character of the fruit and the product to be obtained and limit its consumption. In this study, fermentation was carried out with hydrosol, which is the waste product of hydrodistillation, in order to reduce the astringent and bitter taste of gilaburu fruit and to obtain bioactive and sensory improved gilaburu juice. For this purpose, thyme, lavender and piperita hydrosols were added to the gilaburu fermentation medium at ratios of 20%, 40%, 60%, 80% and 100% (v/v) and fermentation was carried out by traditional method for 4 months. During fermentation, fermented



gilaburu juices and hydrosols were collected and sensory analyses were carried out by determining pH, acidity, colour, turbidity, phenolic matter, flavonoid matter, hydrolysed tannin, anthocyanin and antioxidant activity values of the samples. It was determined that gilaburu juice samples fermented with hydrosol had significantly ($p<0.05$) higher antioxidant activity value (19-30 mg TE 100 ml⁻¹) than the control group. In addition, it was determined that the sensory perception of astringency in gilaburu juice samples fermented with hydrosol was less than the control group. With this study, both the distillation waste product was utilised and new alternative fermented beverages were obtained by adding bioactive substances that may come from this product to the fermented product.

Key Words: Gilaburu, hydrosol, hydrodistillation, fermentation, by product

Giriş

Kekik (*Thymus vulgaris* L.) aromatik özellikleri ile bilinen ve yemeklerde taze ya da kurutulmuş olarak, aroma verici ve gıda koruyucu olarak sıklıkla kullanılan bir tıbbi ve aromatik bitkidir (Nikolić ve ark., 2014). Sağlık açısından oldukça fazla etkiye sahip olan kekik kendine has kokusunu sağlayan uçucu yağı karvakrol ve timol bileşiklerinin yanı sıra simol, borneol ve linalol bileşiklerini de içermektedir (Popa ve ark., 2021). Tıbbi nane (*Mentha piperita* L.) uçucu yağları, özellikle mentol ve menton gibi uçucu bileşikler içermektedir. Bu bileşikler, mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebilen antiseptik özelliklere sahiptir. Bunun yanında tıbbi nane fenolik ve antioksidan bileşikler açısından da zengindir. İçerdiği bu aktif bileşikler sayesinde sağlık üzerinde olumlu etkiler sergilemektedir (Sadowska ve ark., 2016). Lavanta (*Lavandula angustifolia*) özellikle uçucu yağları sebebiyle antidepresan, antispazmodik, antibakteriyel ve lokal anestezi etkiler göstermektedir. Linalil acetat ve linalol temel aktif bileşikleridir (Yadikar ve ark., 2018). Lamiaceae ailesinde yer alan tıbbi ve aromatik bitkiler çok yaygın kullanım alanlarına sahip olup, kekik, tıbbi nane ve lavanta bu familyaya ait olan ve özellikle değerli uçucu yağları nedeniyle ticari öneme sahip türlerdir (Ya-ting, 2016). Uçucu yağların bitkiler ve farklı kaynaklardan distilasyon yöntemiyle elde edilmesinin ardından yan ürün olarak hidrosol adı verilen aromatik su açığa çıkmaktadır (D'Amato ve ark., 2018). Uçucu yağın elde edildiği bitkinin bileşimindeki birçok değerli bileşikler içeren bu yan ürün farklı gıda, kozmetik ve diğer alanlarda yer alan ürünlerin bileşiminde

değerlendirilebilecek potansiyele sahip atık bir materyaldir. Bununla birlikte, farklı aromatik bitkilerden elde edilen hidrosoller aromaterapide, parfümeride ve bazı gıda formülasyonlarında koku ve lezzet düzenleyici olarak ve zenginleştirme amaçlı kullanım alanları bulunmaktadır (İncegöl ve Çam, 2021; Lee, 2016; Paparella ve ark., 2018).

Caprifoliaceae familyasının bir üyesi olan gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Avrupa'ya özgü bir bitki türü olup ülkemizde özellikle İç Anadolu ve Karadeniz bölgesinde yetişmektedir (Yilmaztekin ve Sislioglu, 2015). Bileşiminde yer alan yüksek orandaki fenolik bileşikler (klorojenik asit, antosiyanin, kateşin), vitamin (askorbik asit), mineral (potasyum, kalsiyum) ve organik asit (malik asit) gibi biyoaktif bileşikler sayesinde sağlık üzerinde birçok olumlu etkiler gösterdiği bildirilmektedir (Kraujalyte ve ark., 2012; Sagdic ve ark., 2006). Kendine özgü buruk ve acı bir tada sahip olan gilaburu meyvesi içerisinde bulunan viburnine bileşiğinin neden olduğu acı tat nedeniyle taze olarak tüketilememektedir (Sagdic ve ark., 2006). Bundan dolayı bu meyve Eylül ve Ekim aylarında hasat edildikten sonra içme suyu ile birlikte bir kavanoz içerisinde geleneksel olarak 3-5 ay süre ile fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon sonrasında meyveler ezilerek elde edilen fermente gilaburu suyu isteğe göre şeker ve su ilave edilerek tüketilmektedir (Yilmaztekin ve Sislioglu, 2015).

Aromatik bitkilerden uçucu yağların elde edilmesinde kullanılan distilasyon yönteminde yan ürün olarak bitkisel sulu ekstraktlar olan hidrosoller açığa çıkmaktadır. Hidrosoller çeşitli organik asitler, proteinler ve fenolik bileşikler içermektedir (Mielnik ve ark., 2008). Uçucu yağın üretimi sırasında suda çözünebilir bileşiklerden özellikle kullanılan bitkinin fenolik bileşikler

hidrosol kısmında kalmakta ve bu bileşikler atık suya biyoaktif özellikler kazandırmaktadır. Bu çalışmada uçucu yağ ticaretinde önemli bir yere sahip olan kekik, tıbbi nane ve lavanta uçucu yağlarının elde edilmesinden sonra kalan hidrosollerin gilaburu meyvesi fermantasyonu ortamına ilave edilmesiyle elde edilen gilaburu suyunun duyuşal, fizikokimyasal ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Materyal ve kimyasallar

Yeni hasat edilmiş gilaburu meyvesi 2022 yılının Ekim ayında Kayseri'nin Kırnardı ilçesindeki bir üreticiden temin edilmiştir. Kekik (*Thymus vulgaris*) ve lavanta (*Lavandula angustifolia*) Kayseri'de yerel bir aktardan (İnan Aktar), tıbbi nane (*Mentha piperita* L.) Erciyes Üniversitesi Tarımsal Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma-Merck kaynaklıdır.

Hidrodistilasyon

Kuru formda temin edilen kekik, tıbbi nane ve lavanta yaprakları ayrı ayrı 50 g alınarak üzerine 1000 ml saf su ilave edilerek Clevenger distilasyon

ünitesine bağlanmıştır. Hidrodistilasyon işlemi 2 saat boyunca gerçekleştirilmiş ve süre sonunda uçucu yağlar ayrılmıştır. Kalan distile yapraklar ve hidrosol filtre edilerek ayrılmış, hidrosoller fermantasyonda kullanılmak üzere 4°C' de muhafaza edilmiştir.

Fermantasyon

Hasat zamanında taze olarak temin edilen gilaburu meyveleri musluk suyu altında yıkanarak önceden otoklavda sterilize edilen cam kavanozlara 300 g olacak şekilde yerleştirilmiştir. Üzerine 700 ml %20, 40, 60, 80 ve 100 (v/v) oranlarında kekik, lavanta ve tıbbi nane hidrosollerini eklenmiştir. Kavanozların kapakları sıkıca kapatılarak oda sıcaklığında (25° C) karanlık bir yerde 4 ay süre ile fermantasyona bırakılmıştır. Fermantasyonda 1 aylık periyotlarla örnekler alınmış ve hidrosollü fermente su ile fermente gilaburu suyu tülbent bir bezle süzülerek ayrılmıştır. Ardından meyveler bir tülbent bezle elle preslenmiştir. Elde edilen hidrosollü fermantasyon sıvısı ve fermente gilaburu suyu örnekleri 5000 rpm' de 5 dakika boyunca santrifüjlenerek süpernetanti analizlerde kullanılıncaya kadar -18°C de muhafaza edilmiştir (Yılmaztekin and Sislioglu 2015).



Şekil 1. Fermente gilaburu suyu ve hidrosollü fermantasyon sıvısı örnekleri

Figure 1. Fermented gilaburu juice and fermentation liquid with hydrosol

Fizikokimyasal analizler

Örneklerin pH değerleri ve titrasyon asitliği değerleri bir pH metre cihazı (Hanna, Amerika) yardımıyla belirlenmiştir. pH değeri pH metrenin doğrudan örneğe daldırılması ile, titrasyon asitliği ise 0.1 N ayarlı NaOH ile pH değeri 8.2 olana kadar titre edilerek belirlenmiştir. Asitlik, laktik asit cinsinden yüzde olarak belirtilmiştir. Örneklerin

renk değerleri otomatik renk ölçme cihazı (Konica Minolta Chroma Meter CR-5, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Briks (suda çözünür kuru madde) değeri Abbe refraktometresi (Soif, 2WAJ, Çin) ile ölçülerek yüzde olarak (%) ifade edilmiştir. Bulanıklık değerleri bir türbidimetre cihazı (Hach, 2100 N, Türkiye) ile ölçülerek NTU cinsinden ifade edilmiştir.

Toplam fenolik madde miktarı analizi

Toplam fenolik madde miktarı analizi Singleton ve Rossi (1965) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. 0.4 ml örnek deney tüplerine alınarak üzerine 10 kat su ile seyreltilmiş 2 ml Folin çözeltisi eklenmiştir. Ardından %7.5' luk 1.6 ml Na₂CO₃ çözeltisi eklenerek vorteks ile karıştırılmış ve tüpler 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 765 nm' de spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) örneklerin absorbans okumaları örnek ile aynı miktarda saf su ile hazırlanan kör örneğe karşı gerçekleştirilerek sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirtilmiştir (Gallik asit eğrisi denklemi; $y = 110,93x - 4,8265$; $R^2 = 0,9957$).

Hidrolize tanen analizi

Hidrolize tanen analizi Willis ve Allen (1998) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Örneklerden 1 ml alınarak üzerine %2.5' luk KIO₃ çözeltisinden 5 ml eklenmiş ve 25° C' de 2 dakika bekletilmiştir. Ardından örneklerin absorbansı 550 nm dalga boyunda saf su ile hazırlanan kör çözeltiye karşı spektrofotometrede ölçülerek tannik asit eşdeğeri cinsinden sonuçlar ifade edilmiştir (Tannik asit eğrisi denklemi; $y = 4786,6x - 542,32$; $R^2 = 9884$).

Toplam flavonoid madde miktarı analizi

Toplam flavonoid madde analizi Zhishen ve ark., (1999) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Deney tüpü içerisine 4 ml saf su, 1 ml örnek ve 0.3 ml %5' lik NaNO₂ çözeltisi alınarak karışım 5 dakika bekletilmiştir. Ardından 0.3 ml %10' luk AlCl₃ çözeltisi eklenerek 1 dakika bekletilmiş ve 2 ml 1N NaOH çözeltisi eklenerek son hacim saf su ile 10 ml' ye tamamlanmıştır. Karışım vorteks ile karıştırılarak 510 nm' de spektrofotometrede saf su ile hazırlanan kör çözeltiye karşı absorbans okuması gerçekleştirilmiş ve sonuçlar mg kateşin eşdeğeri (KE) olarak ifade edilmiştir (Kateşin eğrisi denklemi; $y = 255,99x - 0,5073$; $R^2 = 0,9997$).

Toplam monomerik antosiyanin madde analizi

Potasyum klorür (0.025 M, pH=1) ve sodyum asetat (0.4 M, pH=4) tampon çözeltileri ve örnekler tampon kapasitesi göz önünde bulundurularak deney tüplerine alınmış ve 30 dakika karanlıkta

bekletilmiştir. 700 nm ve 515 nm'de spektrofotometrede saf suya karşı absorbans okumaları yapılmıştır. Sonuçlar siyanidin-3-glukozid eşdeğeri olarak aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (Cemeroğlu, 2013).

$$A = (A_{515} - A_{700})_{pH=1} - (A_{515} - A_{700})_{pH=4}$$

$$\text{Monomerik antosiyanin (mg/L)} = \frac{(A \cdot MW \cdot SF \cdot 1000)}{(\epsilon \cdot \ell)}$$

A, absorbansların farkı, MW, siyanidin 3-glukozidin molekül ağırlığı, SF, seyreltme faktörü, ϵ , molar absorptivite, ℓ , spektrofotometre küveti katman kalınlığı (ℓ : 1 cm).

Antioksidan aktivite analizi

Örneklerin antioksidan aktivite değerleri DPPH metoduna göre (Singh ve ark., 2002) belirlenmiştir. 0.1 ml deney tüpüne alınmış örnek üzerine 3.9 ml metanolde hazırlanan 6.25 mM DPPH çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda 515 nm spektrofotometrede metanole karşı örnek absorbans okumaları gerçekleştirilerek sonuçlar troloks eşdeğeri (TE) olarak ifade edilmiştir (Troloks eğrisi denklemi; $y = 2,5805x + 13,74$; $R^2 = 0,9809$).

Duyusal analiz

Örneklerin duyusal analizleri Gıda Mühendisliği bölümü öğrenci ve öğretim elemanları arasından seçilmiş 10 eğitimli panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Örneklerin duyusal değerlendirmeleri renk, aroma, meyvemsi tat, çiçeksi tat, fermente tat, otsu tat, renk, acılık, burukluk ve genel beğeni parametreleri açısından 5 puanlı hedonik skala testine (1: Hiç beğenmedim, 2: Az beğendim, 3: Orta derecede beğendim, 4: Beğendim, 5: Çok beğendim) göre gerçekleştirilmiştir. Panelistlere örnekler birbirinden bağımsız bölümlerde ve su ile birlikte sunulmuştur, duyusal test öncesi bilgilendirme yapılmıştır.

İstatistiksel analiz

Analizler iki tekerrür ve üç paralel olacak şekilde

gerçekleştirilmiş ve sonuçlar iki bağımsız tekrarlı sonuçların ortama ve standart sapmalarını gösterecek şekilde verilmiştir. Analiz sonuçlarının istatistiki açıdan değerlendirilmesinde SPSS 10.0.1 programı (SPSS Inc., Chicago, USA) kullanılarak gruplar arası karşılaştırma Tukey testi ile değerlendirilmiştir.

Araştırma Bulguları ve Tartışma

Hidrosol eklenmiş fermente gilaburu suyunun özellikleri

Fermente gilaburu suyu örneklerinin hazırlanmasında kullanılan hidrosoller ile gilaburu meyvesinin bazı fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri Çizelge 1' de verilmiştir. Hidrosollerden tıbbi nane hidrosolünün lavanta ve kekik hidrosolüne göre antioksidan aktivite ve pH değerinin yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). Popa ve ark., (2021) kekik ve lavanta hidrolatlarının toplam fenolik madde içeriklerini 18.38 mg GAE 100 ml⁻¹ ve 1.06 mg GAE 100 ml⁻¹ olarak, DPPH indirgeme antioksidan aktivite değerlerini ise sırasıyla %98.16 ve %12.91 olarak belirlemişlerdir. Bu sonuçlar kekik hidrosolünün lavanta hidrosolünden daha yüksek değerde olması açısından benzerlik göstermekle birlikte çalışmamızdaki hidrosollerin toplam fenolik madde miktarları bu değerlerden oldukça yüksektir. Bu farklılık distilasyon türü, distilasyon süresi, bitki genetik varyasyonlarındaki çeşitlilik ile açıklanabilir. Alice ve ark., (2019) kekik ve tıbbi nane distilasyon atık sularının toplam fenolik madde değerlerini rosmarinik asit cinsinden %7.43 ve %4.47 olarak belirlemişlerdir. Yılmaztekin ve Sislioglu (2015) gilaburu meyvesinin pH, brix, asitlik ve toplam fenolik madde değerlerini 2.77, %10.35, %2.42 ve 413 mg GAE 100 g⁻¹ olarak belirlemiştir. Bu sonuçlar gilaburunun asitlik değeri dışında benzerlik göstermektedir. Yoğun ekşi ve buruk tat ile karakterize edilen gilaburu meyvesinin pH, brix, asitlik değerleri ile meyvenin olgunluğu bu tatları kısmen etkilendiği bildirilmektedir. Bununla birlikte toplam fenolik, flavonoid, antosiyanin gibi biyoaktif bileşenlerin içerikleri genetik varyasyonlar sebebi ile farklılaşabilmektedir

(Ozrenk ve ark., 2020).

Fermente örneklerine ait pH değerlerindeki değişimler Çizelge 2' de verilmiştir. Buna göre fermantasyon süresinin artması ile kontrol örneğinin pH değerinde istatistiksel olarak önemli bir düzeyde değişim tespit edilmezken, hidrosol ortamında fermente edilen gilaburu meyvesinin pH değerleri fermantasyon süresi ile farklılık göstermektedir. Fermantasyonun ilk ayında genel olarak fermente gilaburu suyu örneklerinin pH değerleri arasında önemli bir değişim görülmezken, fermantasyon süresinin değişimine bağlı olarak örnekler arasında farklılıklar görülmektedir ($p < 0.05$). Özellikle %100 kekik hidrosolü ile fermente edilen gilaburu suyunun pH değeri 4. ayın sonunda diğer hidrosoller ile üretilen gilaburu sularına göre en yüksek seviyeye ulaşmıştır. Fermente gilaburu suyu ile fermantasyon ortamındaki hidrosoller pH değerleri açısından karşılaştırıldığında ise genel olarak hidrosollerin pH değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Fermente olmamış örneklerin pH değerlerine bakıldığında gilaburu meyvesinin pH değerinin hidrosollerin pH değerinden daha düşük olduğu görülmektedir. Fermantasyon süresi, hidrosol çeşidi ve ortamdaki miktarına bağlı olarak bu değişimin meyve ve ortamda bulunan hidrosoller arasındaki asitlik üzerinde etkili olan organik asit gibi bileşiklerin ortamlar arasındaki geçişi sonucu meydana geldiği söylenebilir. Çam ve Hişil, (2007) fermente gilaburu suyunun pH değerini 2.95 olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 2' de yer alan gilaburu suyu örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine bakıldığında hidrosollerin asitlik değerlerinin gilaburu suyu örneklerine göre düşük olduğu kontrol grubu gilaburu suyunun ise asitlik değerinin fermantasyon süresinin artması ile arttığı görülmektedir. Diğer hidrosol ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinin benzer eğilim gösterdiği ancak kekik hidrosolü içeren örneklerde asitliğin azaldığı belirlenmiştir. 4 aylık fermantasyon süresinin sonunda hidrosollerdeki asitliğin fermantasyonun başlangıcına göre artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu durumun fermantasyon ile

birlikte ortamda laktik asit bakterilerinin gelişimi sonucu asitliğin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Sevindik ve ark. (2022) laktik asit bakterileri inoküle ederek fermente edilen gilaburu suyunun pH değerini 2.87-3.01, asitlik değerini %1.45-2.43 ve briks değerini 8.75-9.90 olarak belirlemiştir.

Çizelge 3' te fermente örneklerin fermantasyon süresine ve hidrosol türü ve oranına bağlı olarak renk değerlerindeki değişimler verilmektedir. Hidrosollerin gilaburu suyunun fermantasyon ortamında bulunmasının L* değerlerinde artma ve azalmalara neden olduğu, genel itibari ile hidrosol konsantrasyonunun artması ile L* aydınlık

değerlerinin örneklerde azaldığı görülmektedir. Özellikle kekik hidrosolü ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinin L* değerlerinin 4. ayın sonunda oldukça arttığı görülmektedir. Bununla birlikte fermantasyon ortamındaki hidrosollerin ise fermantasyonla birlikte L* değerlerinin arttığı görülmüştür. Hidrosol türü ve oranına bağlı olmaksızın fermente gilaburu sularının 4 aylık fermantasyon süresi sonunda a* değerlerinin azaldığı, b* değerlerinin ise arttığı görülmektedir. Sevindik ve ark., (2022) fermente gilaburu sularının L*, değerini 19.12-31.44, a* değerini 27.20-38.53 ve b* değerini 32.83-49.40 olarak belirlemiştir.

Çizelge 1. Fermente edilecek materyallerin bazı fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri

Table 1. Some physicochemical and bioactive properties of the materials to be fermented

Örnekler <i>Samples</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity</i> (%)	L* <i>L*</i>	a* <i>a*</i>	b* <i>b*</i>	Briks (%) <i>Brix</i> (%)	Bulanıklık (NTU) <i>Turbidity</i> (NTU)	Toplam fenolik madde (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Phenolic compound</i> (mg GAE 100 ml ⁻¹)	Toplam monomerik antosiyenin (mg siyanidin-3- glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total monomeric anthocyanin (mg cyanidin-3- glucoside 100 ml⁻¹)</i>	Hidrolize tanen (mg tannik asit 100 ml ⁻¹) <i>Hydrolyzed tannin (mg tannic acid 100 ml⁻¹)</i>	Toplam flavonoid (mg KE 100 ml ⁻¹) <i>Total flavonoid</i> (mg KE 100 ml ⁻¹)	DPPH ile antioksidan aktivite (mg TE 100 ml ⁻¹) <i>Antioxidant activity with DPPH (mg TE 100 ml⁻¹)</i>
Gilaburu suyu	3.00 ±0.05 ^c	0.77 ±0.03 ^a	21.04 ±0.02 ^c	48.10 ±0.01 ^a	36.16 ±0.02 ^d	9.25 ±0.35 ^a	1934 ±9.17 ^a	477.27 ±6.28 ^a	8.98 ± 0.11	263.16 ±4.40 ^a	461.81 ±5.79 ^a	814.35 ±94.46 ^a
Kekik hidrosolü	5.50 ±0.09 ^b	0.04 ±0.01 ^b	54.43 ±0.36 ^a	18.94 ±0.04 ^d	68.57 ±0.28 ^b	1.63 ±0.18 ^b	134.30 ±12.74 ^b	228.79 ±1.88 ^b	-	170.79 ±2.36 ^b	373.24 ±2.90 ^b	374.93 ± 4.89 ^b
Tıbbi nane hidrosolü	5.92 ±0.09 ^a	0.03 ±0.01 ^b	49.49 ±0.44 ^b	25.00 ±0.11 ^b	72.65 ±0.41 ^a	1.50 ±0.35 ^b	41.30 ±1.81 ^d	264.23 ±16.47 ^b	-	176.05 ±0.34 ^b	224.51 ±12.67 ^d	747.31 ±16.29 ^a
Lavanta hidrosolü	5.40 ±0.01 ^b	0.03 ±0.01 ^b	50.15 ±0.87 ^b	19.97 ±0.20 ^c	64.33 ±0.91 ^c	2.00 ± 0.0 ^b	74.23 ±2.33 ^c	182.70 ±1.65 ^c	-	154.99 ±3.72 ^c	302.33 ± 2.53 ^c	343.26 ±30.13 ^b

Çizelgede yer alan veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Tukey testi sonuçlarına göre aynı sütun içerisinde bulunan farklı küçük harfler gilaburu suyu örnekleri arasında anlamlı farklılığı (p<0.05) ifade etmektedir. NTU: Nefelometrik Bulanıklık Birimi, GAE: Gallik asit eşdeğeri, KE: Katesin eşdeğeri, TE: Troluks eşdeğeri.

Çizelge 2. Fermente örneklerin fermentasyon süresine göre pH ve asitlik değerleri

Table 2. pH and acidity values of fermented samples according to fermentation time

Örnek Sample	Fermentasyon süresi (ay) Fermentation time (month)															
	1. Ay				2. Ay				3. Ay				4. Ay			
	Fermente Gilaburu Suyu Fermented gilaburu juice		Hidrosollü fermentasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol		Fermente Gilaburu Suyu Fermented gilaburu juice		Hidrosollü fermentasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol		Fermente Gilaburu Suyu Fermented gilaburu juice		Hidrosollü fermentasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol		Fermente Gilaburu Suyu Fermented gilaburu juice		Hidrosollü fermentasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol	
	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>	pH <i>pH</i>	Asitlik (%) <i>Acidity (%)</i>
Kontrol	3.22 ± 0.014 ^{bb}	0.54 ± 0.035 ^{db}	5.62 ± 0.00 ^{aA}	0.01 ± 0.005 ^{cb}	3.23 ± 0.007 ^{cb}	0.70 ± 0.005 ^{da}	4.70 ± 0.021 ^{db}	0.03 ± 0.005 ^{cdB}	3.32 ± 0.014 ^{cdeA}	0.48 ± 0.010 ^{dB}	4.35 ± 0.021 ^{deC}	0.08 ± 0.010 ^{bca}	3.21 ± 0.014 ^{cdB}	0.75 ± 0.015 ^{bca}	4.40 ± 0.021 ^{cc}	0.03 ± 0.005 ^{eb}
%20 Tıbbi nane	3.22 ± 0.007 ^{ba}	0.57 ± 0.010 ^{cdC}	5.23 ± 0.028 ^{bca}	0.02 ± 0.005 ^{cc}	3.25 ± 0.014 ^{abca}	0.78 ± 0.015 ^{abA}	4.86 ± 0.014 ^{cc}	0.03 ± 0.005 ^{cdC}	3.26 ± 0.056 ^{deA}	0.65 ± 0.010 ^{ab}	5.12 ± 0.021 ^{bB}	0.05 ± 0.005 ^{bcdB}	3.19 ± 0.014 ^{dA}	0.80 ± 0.005 ^{aA}	4.25 ± 0.014 ^{dD}	0.08 ± 0.005 ^{cA}
%40 Tıbbi nane	3.22 ± 0.007 ^{bb}	0.69 ± 0.010 ^{ab}	4.95 ± 0.212 ^{deB}	0.03 ± 0.005 ^{bcBC}	3.25 ± 0.007 ^{abcb}	0.82 ± 0.010 ^{aA}	6.15 ± 0.021 ^{aA}	0.01 ± 0.005 ^{dC}	3.34 ± 0.028 ^{abcdeA}	0.55 ± 0.010 ^{bcc}	4.63 ± 0.035 ^{cB}	0.04 ± 0.010 ^{cdB}	3.25 ± 0.007 ^{cdB}	0.81 ± 0.005 ^{aA}	4.51 ± 0.014 ^{bb}	0.09 ± 0.005 ^{bca}
%20 Lavanta	3.22 ± 0.021 ^{ba}	0.62 ± 0.005 ^{cb}	4.40 ± 0.007 ^{fb}	0.03 ± 0.010 ^{bca}	3.23 ± 0.007 ^{ca}	0.76 ± 0.010 ^{bca}	4.27 ± 0.014 ^{fc}	0.05 ± 0.010 ^{abca}	3.25 ± 0.014 ^{eA}	0.54 ± 0.005 ^{cc}	4.21 ± 0.014 ^{ed}	0.03 ± 0.005 ^{dA}	3.25 ± 0.014 ^{cdA}	0.78 ± 0.005 ^{abA}	4.54 ± 0.014 ^{ba}	0.05 ± 0.005 ^{deA}
%40 Lavanta	3.22 ± 0.014 ^{bb}	0.68 ± 0.010 ^{abA}	4.75 ± 0.014 ^{eA}	0.05 ± 0.005 ^{abA}	3.24 ± 0.014 ^{bcB}	0.71 ± 0.025 ^{cdA}	4.48 ± 0.028 ^{eb}	0.05 ± 0.005 ^{abA}	3.42 ± 0.007 ^{abA}	0.43 ± 0.010 ^{efB}	4.48 ± 0.014 ^{cdeB}	0.05 ± 0.005 ^{bcdA}	3.22 ± 0.014 ^{cdB}	0.73 ± 0.005 ^{cA}	4.53 ± 0.014 ^{bb}	0.06 ± 0.005 ^{dA}
%20 Kekik	3.29 ± 0.014 ^{aA}	0.61 ± 0.010 ^{cA}	5.46 ± 0.014 ^{abA}	0.02 ± 0.005 ^{cb}	3.30 ± 0.007 ^{abA}	0.58 ± 0.005 ^{eA}	4.76 ± 0.007 ^{dc}	0.03 ± 0.005 ^{bcdB}	3.29 ± 0.021 ^{cdeA}	0.58 ± 0.010 ^{bca}	4.95 ± 0.014 ^{bB}	0.03 ± 0.005 ^{dB}	3.01 ± 0.028 ^{fb}	0.59 ± 0.015 ^{deA}	4.73 ± 0.014 ^{aC}	0.05 ± 0.005 ^{dA}
%40 Kekik	3.20 ± 0.028 ^{bb}	0.71 ± 0.015 ^{aA}	5.03 ± 0.014 ^{cdB}	0.03 ± 0.005 ^{bcB}	3.26 ± 0.014 ^{abcAB}	0.75 ± 0.015 ^{bca}	4.52 ± 0.007 ^{ec}	0.05 ± 0.010 ^{abcAB}	3.33 ± 0.007 ^{bcddeA}	0.41 ± 0.010 ^{fc}	5.75 ± 0.212 ^{aA}	0.03 ± 0.005 ^{dB}	3.26 ± 0.014 ^{bcAB}	0.52 ± 0.005 ^{fb}	4.39 ± 0.014 ^{cc}	0.06 ± 0.005 ^{dA}
%60 Kekik	3.22 ± 0.007 ^{bb}	0.62 ± 0.010 ^{bcb}	4.71 ± 0.007 ^{eb}	0.08 ± 0.015 ^{aA}	3.12 ± 0.028 ^{dc}	0.74 ± 0.005 ^{bcdA}	5.04 ± 0.007 ^{ba}	0.03 ± 0.000 ^{bcdB}	3.35 ± 0.014 ^{abcdA}	0.58 ± 0.010 ^{bC}	4.59 ± 0.014 ^{cdC}	0.08 ± 0.015 ^{ba}	3.11 ± 0.014 ^{ec}	0.61 ± 0.005 ^{dbc}	4.02 ± 0.021 ^{ed}	0.10 ± 0.005 ^{abA}

%80 Kekik	3.24 ± 0.007 ^{abB}	0.70 ± 0.010 ^{aA}	4.72 ± 0.014 ^{eB}	0.08 ± 0.005 ^{aB}	3.27 ± 0.014 ^{abCB}	0.24 ± 0.001 ^{fD}	4.27 ± 0.014 ^{fC}	0.06 ± 0.010 ^{bB}	3.37 ± 0.007 ^{abCA}	0.63 ± 0.010 ^{aB}	5.95 ± 0.007 ^{aA}	0.03 ± 0.005 ^{dC}	3.32 ± 0.014 ^{abA}	0.57 ± 0.005 ^{eC}	4.19 ± 0.014 ^{dD}	0.11 ± 0.005 ^{aA}
%100 Kekik	3.23 ± 0.007 ^{bC}	0.62 ± 0.015 ^{bcA}	4.80 ± 0.007 ^{deA}	0.08 ± 0.010 ^{aB}	3.30 ± 0.014 ^{aB}	0.24 ± 0.001 ^{fD}	4.24 ± 0.007 ^f	0.08 ± 0.005 ^{aB}	3.42 ± 0.014 ^{aA}	0.46 ± 0.010 ^{deC}	4.36 ± 0.014 ^{cdeB}	0.13 ± 0.015 ^{aA}	3.33 ± 0.014 ^{aB}	0.56 ± 0.005 ^{eB}	4.39 ± 0.021 ^{cB}	0.08 ± 0.005 ^{cB}

Çizelgede yer alan veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Tukey testi sonuçlarına göre aynı sütun içerisinde bulunan farklı küçük harfler gilaburu suyu örnekleri arasında anlamlı farklılığı ($p<0.05$), aynı satır içerisinde bulunan farklı büyük harfler aynı gilaburu suyu örneğinde fermentasyon süresine göre anlamlı farklılığı ($p<0.05$) ifade etmektedir.

Çizelge 3. Fermente gilaburu sularının fermentasyon süresine göre renk değerleri

Table 3. Color values of fermented gilaburu juices according to fermentation time

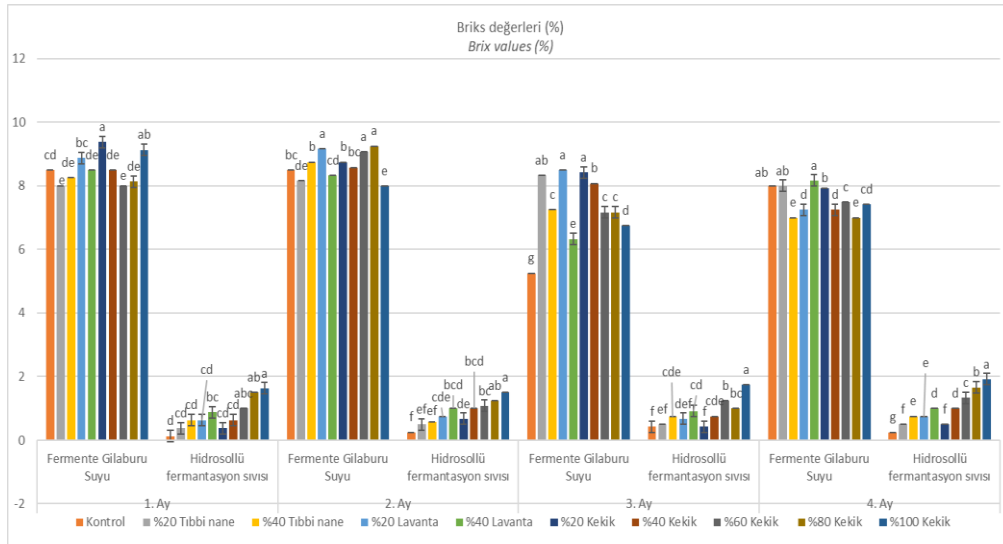
Örnek Sample	Fermentasyon süresi (ay) Fermentation time (month)											
Fermente gilaburu suyu Fermented gilaburu juice	1. Ay			2. Ay			3. Ay			4. Ay		
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Kontrol	20.89 ± 0.070 ^{eB}	47.58 ± 0.083 ^{fA}	35.77 ± 0.125 ^{eB}	18.70 ± 0.020 ^{cC}	42.96 ± 0.047 ^{bC}	31.86 ± 0.096 ^{cB}	25.04 ± 1.282 ^{cA}	46.16 ± 0.083 ^{aB}	40.92 ± 0.233 ^{cA}	17.76 ± 0.084 ^{jC}	39.45 ± 0.097 ^{fD}	32.19 ± 4.319 ^{fB}
%20 Tıbbi nane	24.22 ± 0.036 ^{cB}	51.24 ± 0.042 ^{cA}	41.51 ± 0.095 ^{bcB}	20.99 ± 0.044 ^{bCD}	43.40 ± 0.035 ^{bB}	35.23 ± 0.160 ^{bC}	18.02 ± 0.038 ^{fD}	38.41 ± 0.084 ^{fD}	30.44 ± 0.101 ^{gD}	29.82 ± 0.024 ^{bA}	39.66 ± 0.020 ^{eB}	46.56 ± 0.142 ^{bA}
%40 Tıbbi nane	18.92 ± 0.114 ^{gB}	44.98 ± 0.077 ^{fgA}	32.49 ± 0.163 ^{gB}	13.79 ± 0.016 ^{gD}	35.95 ± 0.07 ^{eD}	23.35 ± 0.086 ^{hD}	18.33 ± 0.020 ^{fc}	39.78 ± 0.043 ^{dB}	31.22 ± 0.110 ^{fc}	26.13 ± 0.023 ^{fA}	39.37 ± 0.038 ^{fc}	42.20 ± 0.138 ^{cdA}
%20 Lavanta	24.81 ± 0.088 ^{bA}	52.20 ± 0.447 ^{bA}	42.30 ± 0.224 ^{bA}	17.22 ± 0.024 ^{eC}	41.30 ± 0.051 ^{cC}	29.35 ± 0.070 ^{eC}	10.21 ± 0.013 ^{gD}	29.38 ± 0.054 ^{hD}	17.50 ± 0.061 ^{hD}	24.63 ± 0.023 ^{gB}	44.21 ± 0.037 ^{aB}	40.87 ± 0.088 ^{dB}
%40 Lavanta	21.15 ± 0.317 ^{eA}	48.26 ± 0.406 ^{efA}	36.26 ± 0.558 ^{eA}	15.27 ± 0.056 ^{fB}	40.17 ± 0.086 ^{dC}	26.12 ± 0.102 ^{fB}	10.21 ± 0.013 ^{gC}	29.38 ± 0.054 ^{hD}	17.50 ± 0.061 ^{hC}	21.28 ± 0.100 ^{iA}	42.39 ± 0.108 ^{bB}	36.01 ± 0.234 ^{eA}
%20 Kekik	22.14 ± 0.597 ^{dB}	48.66 ± 0.716 ^{deA}	38.01 ± 0.643 ^{dB}	22.14 ± 0.597 ^{aB}	48.66 ± 0.716 ^{aA}	38.01 ± 0.643 ^{aB}	21.53 ± 0.025 ^{dB}	45.91 ± 0.043 ^{bB}	36.88 ± 0.077 ^{dC}	27.68 ± 0.059 ^{dA}	39.67 ± 0.015 ^{eC}	43.78 ± 0.153 ^{bcA}

%40 Kekik	29.98 ± 0.437 ^{aB}	55.24 ± 0.483 ^{aA}	49.79 ± 0.681 ^{aA}	18.05 ± 0.030 ^{dD}	40.34 ± 0.037 ^{dB}	30.41 ± 0.054 ^{dD}	27.97 ± 0.021 ^{aC}	38.76 ± 0.034 ^{eC}	43.61 ± 0.196 ^{aC}	34.5 ± 0.164 ^{aA}	37.22 ± 0.078 ^{hD}	48.98 ± 0.183 ^{aB}
%60 Kekik	24.25 ± 0.053 ^{bcB}	49.07 ± 0.048 ^{dA}	40.96 ± 0.084 ^{cB}	14.18 ± 0.224 ^{gD}	36.62 ± 0.230 ^{eD}	24.37 ± 0.390 ^{gD}	20.49 ± 0.017 ^{eC}	38.66 ± 0.023 ^{dC}	34.34 ± 0.098 ^{eC}	29.26 ± 0.035 ^{cA}	39.87 ± 0.015 ^{dB}	45.85 ± 0.047 ^{bA}
%80 Kekik	19.81 ± 0.161 ^{fC}	45.61 ± 0.174 ^{gA}	33.82 ± 0.237 ^{fC}	11.13 ± 0.089 ^D	34.19 ± 0.097 ^{gC}	18.88 ± 0.146 ^D	25.92 ± 0.008 ^{bB}	30.16 ± 0.020 ^{gA}	41.41 ± 0.068 ^{bB}	26.33 ± 0.043 ^{eA}	37.35 ± 0.021 ^{gB}	42.20 ± 0.054 ^{cdA}
%100 Kekik	19.60 ± 0.132 ^{fC}	44.85 ± 0.123 ^{gA}	33.38 ± 0.178 ^{fC}	11.70 ± 0.055 ^{hD}	35.06 ± 0.825 ^{fC}	19.15 ± 0.465 ^D	25.74 ± 0.011 ^{bCA}	40.76 ± 0.017 ^{cB}	41.18 ± 0.073 ^{bA}	24.40 ± 0.072 ^{hB}	41.50 ± 0.061 ^{cB}	40.39 ± 0.146 ^{dB}

Çizelgede yer alan veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Tukey testi sonuçlarına göre aynı sütun içerisinde bulunan farklı küçük harfler gilaburu suyu örnekleri arasında anlamlı farklılığı ($p<0.05$), aynı satır içerisinde bulunan farklı büyük harfler aynı gilaburu suyu örneğinde fermentasyon süresine göre anlamlı farklılığı ($p<0.05$) ifade etmektedir.

Şekil 2' de fermente gilaburu suyu ve hidrosollü fermentasyon sıvılarının suda çözünür kuru madde miktarları verilmiştir. Fermentasyonun tamamlanması ile birlikte fermente gilaburu suyunun briks değerlerinde düşüşler görülmüştür. Bununla birlikte hidrosollü fermentasyon sıvılarının briks değerleri artış göstermiştir. Fermentasyon sürecinde gilaburu

meyvesinden hidrosollere suda çözünen madde geçişleri olması sebebiyle bu artışlar görüldüğü düşünülmektedir. Benzer şekilde Yilmaztekin ve Sislioglu (2015) gilaburu meyvesinin fermentasyon süresinin artması ile toplam kuru madde ve briks değerlerinin azaldığını belirlemişlerdir.



Şekil 2. Fermente örneklerin fermentasyon süresine göre briks değerleri

Figure 2. Brix values of fermented samples according to fermentation time

Şekilde yer alan veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde bulunan farklı harfler Tukey testi sonuçlarına göre anlamlı farklılığı ($p < 0.05$) ifade etmektedir.

Çizelge 4' de hidrosol ile fermente edilen ve kontrol grubu gilaburu suyu örneklerinin toplam fenolik madde değişimleri verilmiştir. Tüm örneklerde fermentasyon süresinin artışı ile özellikle 2. aydan sonra fenolik madde kayıpları meydana gelerek değerlerde düşüşler görülmüştür. Aynı durum ortamda bulunan hidrosollerin fenolik madde değerlerinde de gözlenmektedir. Bu durum fermentasyon ile birlikte laktik asit bakterilerinin gelişmesine bağlı olarak pH ve asitlik değerlerinin değişmesi sonucu toplam fenolik madde

miktarında azalmalara neden olabilmesine bağlanabilir. pH değerindeki değişimler fenolik maddelerin kimyasal yapısı üzerinde etkisi olabileceği ve toplam fenolik değerinin farklılaşabileceği bildirilmektedir (Ankolekar et al. 2012). Huang ve ark., (2019) fermente hawthorn pulpundaki fenolik madde içeriğinin ve antioksidan aktivite değerlerinin fermentasyonla birlikte artış gösterdiğini belirtmiştir. İlk iki aylık fermentasyon süresi sonrası elde edilen fermente gilaburu suyu örneklerinin toplam fenolik madde miktarı değerleri fermente olmamış gilaburu suyunun

değerinden yüksek çıktığı, 4 aylık fermantasyon sonrası ise bu değerlerde düşüşler görüldüğü belirlenmiştir. Gilaburu meyvesi fermantasyonunun fermantasyon süresinin artışına da bağlı olarak hidrosolün bulunduğu ortamda gerçekleştirilmesi ile toplam fenolik madde miktarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde ($p<0.05$) azalma görülmüştür. Gilaburu meyve fermantasyonu sürecinin hidrosol ortamında gerçekleştirilmesi ile acılık ve burukluğun bir kaynağı olarak görülen fenolik bileşiklerin azalması sonucu bu duyuusal algıların daha da azaltılabileceği görülmüştür.

Çizelge 4' de fermente gilaburu suyu örneklerinde fermantasyon süresi ile birlikte antosiyanin madde miktarının değişimi görülmektedir. Kontrol grubu fermente gilaburu suyu antosiyanin madde miktarı 1. ayda maksimum değerde iken ($5.70 \text{ mg } 100 \text{ ml}^{-1}$), fermantasyonun tamamlanmasıyla minimum değere ulaşmıştır ($0.91 \text{ mg } 100 \text{ ml}^{-1}$). Fermantasyonun 1. ayında tıbbi nane ve lavanta hidrosolü ile fermente edilen gilaburunun antosiyanin madde kaybı diğer örneklerle göre önemli düzeyde fazladır ($p<0.05$). Bu kayıplar fermantasyonun sonunda maksimum değere çıkmış ve tüm örneklerde görülmüştür. Fermantasyonun ilk ayında en yüksek antosiyanin madde miktarı kontrol grubunda olduğu belirlenmiştir. Fermantasyonun ikinci ayında ise %100 kekik ile %20 lavanta hidrosolü içeren örneklerin antosiyanin madde miktarları kontrol grubu ile benzer çıkmıştır ($p>0.05$). Fermantasyonun üçüncü ayında ise %20 lavanta hidrosolü içeren örnek kontrol ve diğer örneklerle göre

önemli düzeyde daha yüksek antosiyanin madde içerdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). Fermantasyonun bitmesi ile birlikte kontrol gilaburu suyu ve hidrosol ile fermente edilen gilaburu suyu örnekleri arasında antosiyanin madde miktarı açısından önemli bir farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Mousavi ve ark., (2013) fermente nar suyundaki antosiyanin ve fenolik madde içeriğinin fermantasyonla birlikte azaldığını ve bu değişimin fermantasyon ortamında gelişen laktik asit bakterileri tarafından antosiyaninlerin metabolize edilmesi sonucu bu değişimin görülebileceğini bildirmişlerdir. Özellikle glikolize antosiyaninlerin fermantasyon boyunca bakteriler tarafından hidrolizi ile şeker içermeyen aglikon formlarına dönüşmesi toplam antosiyanin içeriğinde azalmalara yol açabilmektedir.

Çizelge 5 fermantasyon sürecini tamamlamış örneklerin hidrolize tanen, toplam flavonoid ve antioksidan aktivite değerlerini göstermektedir. Buna göre hidrolize tanen miktarı %20 tıbbi nane hidrosolü ile fermente edilen gilaburu suyunda en yüksek seviyede ($144.93 \text{ mg } 100 \text{ ml}^{-1}$) belirlenmiştir. Toplam flavonoid miktarı lavanta hidrosolü içeren örneklerde anlamlı olarak en yüksek değere (168.45 ve $156.41 \text{ mg } 100 \text{ ml}^{-1}$) ulaşmıştır. Antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında ise hidrosol ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinin önemli düzeyde kontrol grubu örneğinden yüksek çıktığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Fermantasyon ortamında bulunan hidrosolün gilaburu suyunun antioksidan aktivite değerine kayda değer oranda katkı sağladığı

görülmüştür. Kaprasob ve ark., (2017) fermente cashew elmasındaki hidroliz edilebilir tanen miktarını 2.51-2.58 mg tannik asit 100 ml⁻¹ olarak, toplam fenolik madde içeriğini 12.30-12.49 mg GAE 100 ml⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Ayrıca toplam fenolik madde değerlerinin 0-24 saat fermantasyon süresine kadar arttığı daha sonra azaldığı, hidroliz edilebilir tanen miktarının fermantasyon süresinin artmasına bağlı olarak azaldığını belirlemiştir. Fermantasyon süreci ile birlikte fenolik madde içeriğinin

azalmasına bağlı olarak antioksidan aktivitenin artması gerek antosiyaninlerin gerekse de diğer flavonoidlerin yapılarında yer alan bileşiklerin ortamdaki bakteriler tarafından enerji kaynağı olarak kullanılmasına bağlanabilir. Fermantasyon sonrası oluşan diğer metabolitler daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması nedeniyle örnekler daha yüksek antioksidan aktivite göstermiş olabilir. Benzer durum Mousavi ve ark. (2013)' yapmış olduğu çalışmada da görülmüştür.

Çizelge 4. Fermente örneklerin fermantasyon süresine göre fenolik madde ve antosiyanin madde miktarları

Table 4. Phenolic and anthocyanin content of fermented samples according to fermentation time

Örnek Samples	Fermantasyon süresi (ay) Fermentation time (month)											
	1. Ay			2. Ay			3. Ay			4. Ay		
	Fermente Gilaburu Suyu <i>Fermented gilaburu juice</i>		Hidrosollü fermantasyon sıvısı <i>Fermentation liquid with hydrosol</i>	Fermente Gilaburu Suyu <i>Fermented gilaburu juice</i>		Hidrosollü fermantasyon sıvısı <i>Fermentation liquid with hydrosol</i>	Fermente Gilaburu Suyu <i>Fermented gilaburu juice</i>		Hidrosollü fermantasyon sıvısı <i>Fermentation liquid with hydrosol</i>	Fermente Gilaburu Suyu <i>Fermented gilaburu juice</i>		Hidrosollü fermantasyon sıvısı <i>Fermentation liquid with hydrosol</i>
	Toplam fenolik (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Total phenolic (mg GAE 100 ml⁻¹)</i>	Toplam antosiyanin (mg siyanidin-3-glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside 100 ml⁻¹)</i>	Toplam fenolik (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Total phenolic (mg GAE 100 ml⁻¹)</i>	Toplam antosiyanin (mg siyanidin-3-glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside 100 ml⁻¹)</i>	Toplam fenolik (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Total phenolic (mg GAE 100 ml⁻¹)</i>	Toplam antosiyanin (mg siyanidin-3-glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside 100 ml⁻¹)</i>	Toplam fenolik (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Total phenolic (mg GAE 100 ml⁻¹)</i>	Toplam antosiyanin (mg siyanidin-3-glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside 100 ml⁻¹)</i>	Toplam fenolik (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Total phenolic (mg GAE 100 ml⁻¹)</i>	Toplam antosiyanin (mg siyanidin-3-glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside 100 ml⁻¹)</i>	Toplam fenolik (mg GAE 100 ml ⁻¹) <i>Total phenolic (mg GAE 100 ml⁻¹)</i>	Toplam antosiyanin (mg siyanidin-3-glukozid 100 ml ⁻¹) <i>Total anthocyanin (mg cyanidin-3-glucoside 100 ml⁻¹)</i>
Kontrol	658.91±3.29 ^{aA}	5.70 ±0.52 ^{aA}	6.21±0.63 ^{hC}	617.20±3.77 ^{bcB}	2.70 ±0.02 ^{aB}	10.14±0.12 ^{IB}	486.19±2.82 ^{aC}	2.06 ±0.01 ^{BC}	17.41±0.27 ^{GA}	270.88±0.63 ^{aD}	0.91 ±0.12 ^{aD}	5.51±0.16 ^{IC}
%20 Tıbbi nane	531.45±1.88 ^{eB}	1.44 ±0.17 ^{efB}	56.46±0.31 ^{gA}	537.78±0.63 ^{efA}	2.36 ±0.04 ^{bA}	46.58±0.86 ^{hB}	289.52±1.41 ^{efC}	0.68 ±0.04 ^{fC}	55.07±0.16 ^{fA}	195.89±0.63 ^{bD}	0.30 ±0.09 ^{aD}	25.18±0.24 ^{gC}
%40 Tıbbi nane	614.98±0.47 ^{cdA}	2.77 ±0.28 ^{deA}	105.60±0.16 ^{dB}	619.86±7.53 ^{bcA}	1.90 ±0.05 ^{dB}	88.27±0.71 ^{eC}	449.59±0.94 ^{bbB}	1.78 ±0.02 ^{cB}	116.05±0.71 ^{cA}	129.56±0.94 ^{ecC}	0.58 ±0.29 ^{aC}	41.01±0.24 ^{cD}
%20 Lavanta	602.34±0.47 ^{dB}	3.42 ±0.23 ^{cdA}	52.46 ±0.31 ^{gbB}	634.95±1.26 ^{bA}	2.66 ±0.03 ^{aB}	53.68±0.82 ^{gbB}	408.99±1.88 ^{ccC}	2.24 ±0.04 ^{aB}	59.43 ±1.18 ^{faA}	122.46±0.31 ^{fdD}	0.78 ±0.18 ^{acC}	34.11±0.04 ^{ecC}
%40 Lavanta	633.29±3.77 ^{bbB}	1.35 ±0.22 ^{fB}	92.85 ±0.63 ^{eB}	737.45±4.39 ^{aA}	2.16 ±0.06 ^{cA}	73.54±0.63 ^{fcC}	312.15±7.06 ^{ecC}	0.80 ±0.02 ^{fcC}	104.05±0.78 ^{daA}	78.53 ±0.94 ^{hdD}	0.78 ±0.18 ^{acC}	42.26±0.31 ^{cdD}
%20 Kekik	532.12±1.88 ^{eA}	4.97 ±0.39 ^{abA}	74.32 ±0.78 ^{faA}	521.80±4.39 ^{fbB}	1.35 ±0.02 ^{eC}	49.41±0.94 ^{hC}	291.18±0.94 ^{ecC}	1.98 ±0.07 ^{bbB}	69.99 ±0.39 ^{ebB}	78.31 ±1.26 ^{hdD}	0.55 ±0.06 ^{adD}	37.49±0.24 ^{ddD}
%40 Kekik	630.96±1.41 ^{baA}	4.97 ±1.21 ^{abA}	105.71±0.31 ^{dcC}	564.40±3.14 ^{dbB}	2.03 ±0.04 ^{cdB}	131.11±0.78 ^{caA}	263.89±18.83 ^{fgC}	1.29 ±0.03 ^{ecC}	127.67±0.31 ^{bbB}	90.07 ±0.94 ^{gdD}	0.54 ±0.24 ^{adD}	23.73±0.47 ^{hdD}

%60 Kekik	528.46± 7.06 ^{eB}	4.55 ± 0.16 ^{abca}	198.56± 0.78 ^{CA}	599.01± 8.16 ^{CA}	1.93 ± 0.06 ^{dB}	163.17± 1.57 ^{bB}	247.58 ± 2.35 ^{gC}	1.56 ± 0.04 ^{dB}	133.44± 4.71 ^{bC}	132.89± 1.26 ^{ED}	0.41 ± 0.02 ^{aC}	31.16± 0.63 ^{fD}
%80 Kekik	542.77 ± 0.94 ^{eA}	5.42 ± 0.31 ^{abA}	227.84 ± 2.98 ^{bA}	554.19 ±10.04 ^{deA}	2.15 ± 0.01 ^{cB}	118.02 ± 1.41 ^{dC}	375.04 ± 2.82 ^{dB}	0.34 ± 0.01 ^{gC}	147.31 ± 1.73 ^{aB}	139.54 ± 0.63 ^{dC}	0.55 ± 0.17 ^{aC}	119.10 ± 0.16 ^{bC}
%100 Kekik	628.96 ± 80 ^{bcA}	4.32 ± 0.50 ^{bcA}	234.50 ± 0.16 ^{aA}	559.07 ±4.392 ^{deB}	2.72 ± 0.05 ^{aB}	184.14 ± 1.09 ^{aB}	253.91 ± 4.71 ^{gC}	1.40 ± 0.02 ^{eC}	149.86 ± 0.31 ^{aC}	159.51 ± 1.26 ^{cD}	0.60 ± 0.02 ^{aD}	150.86± 0.47 ^{aC}

Çizelgede yer alan veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Tukey testi sonuçlarına göre aynı sütun içerisinde bulunan farklı küçük harfler gilaburu suyu örnekleri arasında anlamlı farklılığı (p<0.05), aynı satır içerisinde bulunan farklı büyük harfler aynı gilaburu suyu örneğinde fermantasyon süresine göre anlamlı farklılığı (p<0.05) ifade etmektedir.

GAE: Gallik asit eşdeğeri.

Çizelge 5. Fermente gilaburu suyu ve hidrosollü fermantasyon sıvılarının hidrolize tanen ve toplam flavonoid madde miktarları ve antioksidan aktivite değerleri

Table 5. Hydrolyzed tannins, total flavonoids and antioxidant activity values of fermented gilaburu juice and hydrosol fermentation liquids

Örnek Sample	Fermantasyon süresi (4. ay) Fermentation time (4. month)					
	Örnekler					
	Fermente gilaburu suyu Fermented gilaburu juice	Hidrosollü fermantasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol	Fermente Gilaburu Suyu Fermented gilaburu juice	Hidrosollü fermantasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol	Fermente Gilaburu Suyu Fermented gilaburu juice	Hidrosollü fermantasyon sıvısı Fermentation liquid with hydrosol
	Hidrolize tanen (mg tannik asit 100 ml ⁻¹) Hydrolyzed tannin (mg tannic acid 100 ml ⁻¹)		Toplam flavonoid (mg KE 100 ml ⁻¹) Total flavonoid (mg KE 100 ml ⁻¹)		Antioksidan aktivite (mg TE 100 ml ⁻¹) Antioxidant activity (mg TE 100 ml ⁻¹)	
Kontrol	132.49 ± 1.02 ^{ab}	63.56±1.01 ^f	147.97±20.27 ^{abc}	1.19 ± 0.13 ^f	18.68±0.20 ^g	2.71 ± 0.13 ^h
%20 Tıbbi nane	144.93 ± 2.37 ^a	82.71±1.69 ^e	130.82 ±9.77 ^{abc}	4.19 ± 0.07 ^{ef}	19.06 ± 0.27 ^g	4.69 ± 0.07 ^g
%40 Tıbbi nane	131.53 ± 3.72 ^{abc}	113.82±2.36 ^d	128.51 ±0.72 ^{abc}	8.84 ± 0.20 ^d	26.59 ± 0.10 ^c	8.97 ± 0.23 ^e
%20 Lavanta	131.30± 2.03 ^{abc}	111.91±3.04 ^d	168.45±23.89 ^a	4.94 ± 0.54 ^e	22.95 ± 0.17 ^e	7.17 ± 0.23 ^f
%40 Lavanta	128.42 ± 6.77 ^{abc}	136.08±0.67 ^c	156.41±18.46 ^{ab}	5.03 ± 0.60 ^e	22.93 ± 0.33 ^e	5.17 ± 0.07 ^g
%20 Kekik	110.71 ± 8.80 ^{cd}	88.69±0.67 ^e	121.34 ±2.17 ^{abc}	25.21 ± 0.54 ^c	21.37 ± 0.17 ^f	11.61 ± 0.10 ^d
%40 Kekik	111.91 ± 1.69 ^{bcd}	121.48±3.04 ^d	104.70 ±1.09 ^c	26.24 ± 1.27 ^c	30.37 ± 0.30 ^a	12.11 ± 0.13 ^d
%60 Kekik	105.92 ± 3.39 ^d	180.83±3.72 ^b	112.38 ±8.33 ^{bc}	29.95 ± 0.18 ^b	24.63 ± 0.20 ^d	16.08 ± 0.47 ^c
%80 Kekik	112.86 ± 11.17 ^{bcd}	184.90±3.38 ^b	116.22 ± 1.45 ^{bc}	37.69 ± 0.63 ^a	23.99 ± 0.10 ^d	20.47 ± 0.40 ^b
%100 Kekik	116.45 ± 0.68 ^{bcd}	208.37±7.44 ^a	101.63 ± 6.88 ^c	26.36 ± 1.81 ^c	29.05 ± 0.03 ^b	27.63 ± 0.23 ^a

Çizelgede yer alan veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütun içerisinde bulunan farklı harfler Tukey testi sonuçlarına göre anlamlı farklılığı (p<0.05) ifade etmektedir. KE: Kateşin eşdeğeri, TE: Troloks eşdeğeri.

Fermente gilaburu suyunun duyusal Çizelge 6' da farklı hidrosol ve oranları ile birlikte 4 ay süre ile fermente edilmiş gilaburu örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları yer almaktadır. Fermantasyon uygulaması ve fermentasyona farklı aromatik bitki hidrosollerinin dahil edilmesi gilaburu suyunun duyusal parametreleri üzerinde gözle görülür farklılıklara neden olmuştur. Gilaburu suyu örneklerinin renk ve görünüşleri değerlendirildiğinde kontrol grubu ile birlikte, lavanta hidrosolü ile fermente edilen örneklerin panelistler tarafından daha çok beğenildiği belirlenmiştir. Tatlılık kriteri açısından tüm örnekler benzer olarak algılanmış ve değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Koku açısından %80 kekik hidrosolü ile fermente edilen örnek en düşük puanı alırken diğer örnekler arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p>0.05$). Meyvemsi aroma en belirgin kontrol grubunda tespit

edilirken, çiçeksi aroma lavanta, kekik ve tıbbi lavanta hidrosolü ile fermente edilen örneklerde daha yüksek belirlenmiştir. Fermente aroma, acılık ve burukluk kriterleri açısından örnekler arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Ancak puan değerlerine bakıldığında burukluğun hidrosol ortamında fermente edilen gilaburu örneklerinde daha düşük algılandığı, bu da hidrosollü örneklerin fenolik madde içeriklerinin kontrol grubuna göre daha düşük olması ile doğru orantılı olabileceği düşünülebilir. Genel beğeni puanlarına bakıldığında ise kontrol grubunu takiben %40 tıbbi nane, %40 lavanta, %20 kekik ve %40 kekik örnekleri en beğenilen örnekler arasında yer almıştır. Gilaburu suyu örneklerinin duyusal değerlendirmeleri sırasında panelistlerin hidrosol ile fermente edilen örneklerin daha aromatik olduğu ve bu aromanın gilaburu kaynaklı acı ve buruk tadı baskıladığı belirtilmiştir.

Çizelge 6. Duyusal değerlendirme sonuçları

Table 6. Sensorial evaluation results

Özellikler Properties	Fermente gilaburu suları (4. ay) Fermentation time (4. month)									
	Kontrol	Tıbbi nane % 20	Tıbbi nane % 40	Lavanta %20	Lavanta %40	Kekik %20	Kekik %40	Kekik %60	Kekik %80	Kekik %100
Renk Color	4.7± 0.67 ^a	2.7± 0.95 ^{de}	3.1± 0.74 ^{cde}	4.3± 0.82 ^{ab}	4.4± 0.70 ^{ab}	3.5± 0.71 ^{bcd}	2.1± 0.57 ^e	2.8± 0.79 ^{cde}	2.3± 0.82 ^e	3.9± 1.10 ^{abc}
Tatlılık Sweetness	2.9± 1.20 ^a	2.6± 1.58 ^a	2.6± 1.51 ^a	2.2± 1.03 ^a	2.5± 1.18 ^a	2.6± 0.97 ^a	2.5± 1.08 ^a	2.2± 0.92 ^a	2.0± 0.82 ^a	2.6± 1.17 ^a
Asitlik Acidity	3.3± 1.25 ^a	3.0± 1.33 ^a	2.9± 1.52 ^a	2.8± 1.32 ^a	2.6± 1.43 ^a	3.0± 1.05 ^a	2.6± 0.97 ^a	2.7± 0.95 ^a	2.8± 1.03 ^a	2.9± 0.74 ^a
Koku Odor	4.0± 1.25 ^a	3.3± 1.25 ^{ab}	3.3± 1.16 ^{ab}	3.0± 1.25 ^{ab}	3.2± 1.32 ^{ab}	3.4± 1.07 ^{ab}	3.2± 1.23 ^{ab}	2.4± 1.43 ^{ab}	2.1± 0.88 ^b	3.4± 1.35 ^{ab}
Meyvemsi aroma Fruity flavor	4.4± 1.26 ^a	3.5± 1.43 ^{ab}	3.2± 1.32 ^{ab}	3.3± 1.06 ^{ab}	3.2± 1.32 ^{ab}	3.3± 1.16 ^{ab}	3.5± 0.85 ^{ab}	2.9± 1.20 ^{ab}	2.5± 1.08 ^b	3.3± 0.95 ^{ab}
Çiçeksi aroma Floral flavor	2.5± 1.65 ^a	3.3± 1.65 ^a	3.8± 1.32 ^a	3.9± 1.37 ^a	3.9± 1.45 ^a	2.6± 1.35 ^a	3.3± 1.34 ^a	3.2± 1.32 ^a	3.0± 1.05 ^a	3.2± 1.23 ^a
Fermente aroma Fermented flavor	3.0± 1.70 ^a	3.6± 1.26 ^a	3.3± 1.42 ^a	2.7± 1.16 ^a	2.7± 1.16 ^a	3.0± 1.25 ^a	3.4± 0.97 ^a	3.2± 1.14 ^a	3.7± 0.82 ^a	3.2± 1.14 ^a
Bitkisel aroma Herbal flavor	2.7± 1.81 ^a	3.1± 1.52 ^a	3.4± 1.51 ^a	3.5± 1.51 ^a	3.2± 1.62 ^a	2.4± 1.26 ^a	3.3± 1.25 ^a	4.0± 0.94 ^a	4.0± 0.94 ^a	3.1± 1.10 ^a
Acılık Bitterness	2.8± 1.58 ^a	3.1± 1.29 ^a	2.9± 1.37 ^a	3.2± 1.55 ^a	2.8± 1.14 ^a	2.7± 1.25 ^a	2.6± 0.97 ^a	3.7± 1.06 ^a	2.7± 1.06 ^a	2.7± 1.25 ^a
Burukluk Astringency	3.5± 1.58 ^a	3.1± 1.37 ^a	2.8± 1.14 ^a	3.2± 1.40 ^a	2.9± 1.29 ^a	3.3± 1.16 ^a	2.7± 1.22 ^a	3.2± 1.13 ^a	3.0± 1.41 ^a	3.0± 1.05 ^a
Genel beğeni Overall acceptability	4.4± 0.97 ^a	2.6± 1.58 ^b	3.2± 1.66 ^{ab}	2.3± 1.16 ^b	2.8± 1.14 ^{ab}	3.3± 0.95 ^{ab}	3.0± 0.94 ^{ab}	2.1± 1.20 ^b	2.2± 1.03 ^b	3.0± 1.33 ^{ab}

Çizelgede yer alan veriler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satır içerisinde bulunan farklı harfler Tukey testi sonuçlarına göre anlamlı farklılığı (p<0.05) ifade etmektedir.

Sonuçlar

Kekik, lavanta ve tıbbi nane hidrosolü ile fermente edilen gilaburu suyu örneklerinin duyuşsal özellikleri ile fermentasyon boyunca fizikokimyasal ve biyoaktif özellikleri değerlendirilmiştir. Fermentasyon ortamında yer alan hidrosolün çeşidi ve konsantrasyonunun değişimine bağlı olarak gilaburu suyunun özelliklerinde anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Örneklerin asitlik ve pH değerlerinde anlamlı değişimler görülmezken, fermentasyon süresinin artması ile birlikte hem kontrol örneğinde hem de hidrosol ile fermente edilen örneklerde antosiyanin madde kayıpları görülmüştür. Bununla birlikte, hidrosolün fermentasyona dahil edilmesi ile bazı fermente gilaburu sularında hidrolize tanen, toplam flavonoid ve antioksidan aktivitede kontrol grubuna kıyasla artışlar görülmüştür. Duyusal açıdan ise kontrol grubuna kıyasla burukluk puanlarının hidrosol ile fermente edilen örneklerde azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışma ile uçucu yağ endüstrisinin atık materyali olan hidrosoller gilaburunun fermentasyonu sürecine dahil edilerek geri kazanılmış ve biyoaktif özellikleri geliştirilmiş duyuşsal olarak kabul edilebilir aromatik fermente gilaburu suyu üretimi gerçekleştirilmiştir. Geleneksel fermente ürünlere alternatif yeni laktik fermente meyve ve sebze sularının geliştirilmesinde bu ürünlerde kullanılan ham maddelerin besinsel avantajları ile laktik fermentasyondan kaynaklanan faydaların birleşiminden yola çıkılarak önemli katma değere sahip başka ürünler geliştirilebilir.

Teşekkür: Bu çalışma TÜBİTAK 2209-A lisans araştırma projeleri kapsamında 1919B012203455 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı: MÇ çalışmayı tasarlamış, FY, MŞK ve ŞA deneysel çalışmaları yürütmüş, SB tarafından çalışma verileri değerlendirilmiş ve makale yazılmış, MÇ tarafından düzenlenmiştir.

Kaynaklar

- Alice, G., Corina, B., Lucia, P., Sultana, N., Bazdoaca, C., & Nicoleta, D. (2019). Polyphenol Content Dynamics in Hydrodistillation Water Residues of Lamiaceae Species. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 22(3), 858–64.
- Ankolekar, C., Johnson, K., Pinto, M., Johnson, D., Labbe, R.G., Greene, D., & Shetty, K. (2012). Fermentation of whole apple juice using lactobacillus acidophilus for potential dietary management of hyperglycemia, hypertension, and modulation of beneficial bacterial responses. *Journal of Food Biochemistry*, 36, 718–38.
- Cemeroğlu, B. S., Gıda Analizleri, Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Ankara, 2013.
- Çam, M., & Y. Hişil. (2007). Comparison of Chemical Characteristics of Fresh and Pasteurised Juice of Gilaburu (*Viburnum Opulus* L.). *Acta Alimentaria*, 36(3), 381–85.
- D'Amato, Serena, Serio, A., López, C. C., & Paparella, A. (2018). Hydrosols: Biological Activity and Potential as Antimicrobials for Food Applications. *Food Control*, 86, 126–37.
- Huang, Y., Wang, H., & Zhu, C. (2019). Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation on Antioxidation and Bioactivity of Hawthorn Pulp. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 267(6).
- İncegöl, Y., & Çam, M. (2021). Recovery of Water - Soluble Materials after Distillation of Sage (*Salvia Officinalis* L.) and the Use of Materials in the Production of Cake and Ice Cream. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15, 2688–94.
- Kaprasob, R., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., Sarkar, D., & Shetty, K. (2017). Fermentation-Based Biotransformation of Bioactive Phenolics and Volatile Compounds from Cashew Apple Juice by Select Lactic Acid Bacteria. *Process Biochemistry*, 59, 141–49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2017.05.019>.
- Kraujalyte, V., Leitner, E., & Venskutonis, P. R. (2012). Chemical and sensory characterisation of aroma of *Viburnum opulus* fruits by solid phase microextraction-gas chromatography-olfactometry. *Food Chemistry*, 132, 717–723.
- Mielnik, M. B., Sem, S., Egelanddsdal, B., & Skrede, G. (2008). By-products from herbs essential oil production as ingredient in marinade for turkey thighs. *LWT*, 41, 93–100.
- Ya-ting, L. (2016). A Study of the Effect of Lavender Fl Oral-Water Eye-Mask Aromatherapy on the Autonomous Nervous System. *European Journal of Integrative Medicine*, 8(5), 781–88. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eujim.2016.05.008>.
- Spréa, R. M., Caleja, C., Pinela, J., Finimundy, T. C., Calhelha, R. C., Kostić, M., Sokovic, M., Prieto, M. A., Pereira, E., Amaral, J. S. & Barros, L. (2022). Comparative Study on the Phenolic Composition and in Vitro Bioactivity of Medicinal and Aromatic Plants from the Lamiaceae Family. *Food Research International*, 161.
- Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Hadinejad, M., Emam-Djomeh, Z., & Mirzapour, M. (2013). Effect of Fermentation of Pomegranate Juice by *Lactobacillus Plantarum* and *Lactobacillus Acidophilus* on the

- Antioxidant Activity and Metabolism of Sugars, Organic Acids and Phenolic Compounds. *Food Biotechnology*, 27(1), 1–13.
- Nikolić, M., Glamočlija, J., Ferreira, I. J. F. R., Calhelha, R. C., Fernandes, A., Marković, T., Marković, D., Giweli, A., & Soković, M. (2014). Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant and Antitumor Activity of *Thymus Serpyllum* L., *Thymus Algeriensis* Boiss. and *Reut* and *Thymus Vulgaris* L. Essential Oils. *Industrial Crops and Products*, 52, 183–90.
- Ozrenk, K., İlhan, G., Sagbas, H. I., Karatas, N., Ercisli, S., & Colak, A. (2020). Characterization of European Cranberrybush (*Viburnum Opulus* L.) Genetic Resources in Turkey. *Scientia Horticulturae*, 273, 109611.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109611>.
- Popa, C. L., Lupitu, A., Mot, M. D., Copolovici, L., Moisa, C., & Copolovici, D. M. (2021). Chemical and Biochemical Characterization of Essential Oils and Their Corresponding Hydrolats from Six Species of the Lamiaceae Family. *Plants*, 10(11), 1–18.
- Sadowska, U., Żabiński, A., Szumny, A., & Dziadek, K. (2016). An Effect of Peppermint Herb (*Mentha Piperita* L.) Pressing on Physico-Chemical Parameters of the Resulting Product. *Industrial Crops and Products*, 94, 909–19.
- Sagdic, O., Aksoy, A., & Ozkan, G. (2006). Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Potentials of Cranberry (*Gilaburu*, *Viburnum Opulus* L.) Fruit Extract. *Acta Alimentaria*, 35(4), 487–92.
- Sevindik, O., Guclu, G., Agirman, B., Selli, S., Kadiroglu, P., Bordiga, M., Capanoglu, E., & Kelebek, H. (2022). Impacts of Selected Lactic Acid Bacteria Strains on the Aroma and Bioactive Compositions of Fermented *Gilaburu* (*Viburnum Opulus*) Juices. *Food Chemistry*, 378, 132079.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132079>.
- Singh, R. P., Murthy, K. N. C., & Jayaprakasha G. K. (2002). Studies on the Antioxidant Activity of Pomegranate (*Punica Granatum*) Peel and Seed Extracts Using in Vitro Models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81–86.
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf010865b>.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Willis, R. B., & Allen, P. R. (1998). Improved Method for Measuring Hydrolyzable Tannins Using Potassium Iodate. *Analyst*, 123(3), 435–39.
- Yadikar, N., Bobakulov, K., Li, G., Aisa, & H. A. 2018. Seven New Phenolic Compounds from *Lavandula Angustifolia*. *Phytochemistry Letters*, 23, 149–54.
<https://doi.org/10.1016/j.phytol.2017.12.005>.
- Yilmaztekin, M., & Sislioglu, K. (2015). Changes in Volatile Compounds and Some Physicochemical Properties of European Cranberrybush (*Viburnum Opulus* L.) During Ripening Through Traditional Fermentation. *Journal of Food Science*, 80(4), C687–94.
- Zhishen, J., Mergcheng, T., Jianming, W. (1999). The Determination of Flavonoid Contents in Mullberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–59.



Sınırlandırılmış alanlara uygulanan pH düşürücü bazı materyallerin bazı toprak özellikleri, kiraz ağaçlarının beslenmesi ve meyve özelliklerine etkisi

The effect of some pH lowering materials applied in constricted areas on some soil properties, nutrition of Sweet cherry trees and pomological properties

Kadir UÇGUN^{1*} , Murat CANSU²

¹Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü 70100 Karaman

²Ereğli İlçe Tarım ve Orman Müdürlüğü 42310 Konya

¹<https://orcid.org/0000-0003-1085-8783>; ²<https://orcid.org/0000-0002-5468-0529>

To cite this article:

Uçgun, K. & Cansu, M. (2024). Sınırlandırılmış alanlara uygulanan pH düşürücü bazı materyallerin bazı toprak özellikleri, kiraz ağaçlarının beslenmesi ve meyve özelliklerine etkisi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 165-179
DOI: 10.29050/harranziraat.1264307

*Address for Correspondence:

Kadir UÇGUN
e-mail:
kadirucgun@gmail.com

Received Date:

13.03.2023

Accepted Date:

12.03.2024

Öz

Meyve ağaçlarının gelişimini etkileyen en önemli toprak özelliklerinden birisi toprak pH'sıdır. Bu çalışmada toprak pH'sının düşürülmesinde etkili olabileceği düşünülen demir sülfat, hidroklorik asit, bentonitli kükürt ve sıvı kükürt materyalleri; ağaçların taş izdüşümüne (1.2 m²) uygulanarak etkilerinin toprak, yaprak ve meyve analizleri ile ortaya konması hedeflenmiştir. Kültürel uygulamalar (gübreleme, sulama vb.) eşit dozlar ve aynı koşullarda gerçekleştirilmiştir. Denemeler iç ve geçit bölge ikliminin hâkim olduğu Isparta ilinde (Türkiye) 0900 Ziraat çeşidi ile oluşturulmuş kiraz (*Prunus avium*) bahçesinde tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrürlü ve her tekerrürde 1 ağaç olacak şekilde 2017 yılında yürütülmüştür. İlk uygulama zamanından 2 hafta sonra başlayan ve 14 gün aralıklarla devam eden 6 farklı dönemde alınmış toprak örneklerinde pH, elektriksel iletkenlik (EC), bitkiye yarayışlı demir (Fe), bakır (Cu), mangan (Mn) ve çinko (Zn) analizleri yapılmıştır. Sezon ortasında yaprak örneklerinde azot (N), fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), Fe, Cu, Mn, Zn ve bor (B) içerikleri belirlenmiştir. Hasat zamanında verim, meyve eni, meyve eti setliği, suda çözünebilir katı madde, pH, titre edilebilir asitlik ve meyve kabuk rengi değerleri ölçülmüştür. Araştırma bulgularına göre toprak pH'sı değerlerinde tüm uygulamalarda kontrole göre 1. dönem dışında önemli azalmalar meydana gelmiş ve bu azalmalar genel olarak en fazla bentonitli kükürt uygulamasında gerçekleşmiş ve bunu sıvı kükürt uygulaması takip etmiştir. Toprak pH'sının düşük olduğu uygulamalarda EC değeri yüksek bulunmuştur. Bu durumu EC ve pH değerleri arasında elde edilen negatif korelasyon (-0.68**) doğrulamıştır. Toprakta bitkiye yarayışlı mikro elementler incelendiğinde Fe ve Zn konsantrasyonları üzerine demir sülfat uygulaması etkili olurken Mn üzerine bentonitli kükürt etkili olmuştur. Yaprakların besin elementi içeriğine ve meyvenin pomolojik özelliklerine uygulamaların etkisi istatistiksel olarak önemli olmamıştır. Çalışma sonucunda sadece toprak pH'sı dikkate alındığında bentonitli kükürt ile sıvı kükürt öne çıkmıştır. Fakat denemenin yürütüldüğü şartlar altında bitki besleme ve meyve kalitesi yönünden kiraz yetiştiriciliği için herhangi bir ürün önerilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Demir sülfat, hidroklorik asit, bentonitli kükürt, sıvı kükürt, toprak pH'sı



ABSTRACT

One of the most important soil properties affecting fruit tree development is soil pH. In this study, ferrous sulfate, hydrochloric acid, bentonite sulfur and liquid sulfur materials, which are believed to be effective in lowering soil pH, were applied beneath the tree canopy (1.2 m²) and their effects were aimed to be revealed by soil, leaf and fruit analysis. Cultural practices (fertilization, irrigation, etc.) were carried out in the same doses and under the same conditions. In 2017, the experiment was carried out in the province of Isparta (Turkey), where the climate of the inland and transitional region dominates, in the sweet cherry (*Prunus avium*) orchard cv. 0900 Ziraat, according to the randomized block design with 4 replications and 1 tree in each replicate. Soil samples were taken in 6 different periods starting 2 weeks after the first application time to continuing at 14-day intervals and analyzed pH, EC, extractable Fe, Cu, Mn, and Zn. Leaf samples were collected in the middle of the season and determined N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn, and B contents of them. Yield, fruit width, fruit flesh firmness, soluble solids content, pH, titratable acidity, and fruit skin color were recorded at harvest time. According to the results of the research, there was a decrease in soil pH values in all treatments compared to the control except for the 1st period, and this decrease was generally highest in bentonite sulfur, followed by liquid sulfur. EC was found to be high in treatments with low soil pH. This was confirmed by the negative correlation (-0.68**) between EC and pH values. When plant-available microelements in the soil were examined, ferrous sulfate was effective on Fe and Zn concentrations, while bentonite sulfur was effective on Mn. The treatments were ineffective on the nutrient contents of the leaves and pomological properties. According to the results, considering only the soil pH, bentonite sulfur and liquid sulfur came to the forefront. No product was recommended for cherry cultivation in terms of plant nutrition and fruit quality under the conditions conducted the study.

Key Words: Iron sulfate, hydrochloric acid, bentonite sulfur, liquid sulfur, soil pH

Giriş

Meyve ağaçları bulundukları toprakları uzun yıllar işgal ederler ve yaşamlarını belirli bir alan içindeki toprakta devam ettirirler. Her toprak çeşitli etmenlere (ana materyal, iklim, antropojenik etkiler, vb.) bağlı olarak farklı özellikler göstermektedir (Aydemir et al., 2005). Toprakların temel özelliklerini tekstür, kireç, organik madde, pH ve besin elementi gibi faktörler belirler. Bahçe tesisi yapılacak ya da hali hazırda kurulu meyve bahçelerinde bu faktörlerin yetiştiricilik açısından uygun olmadığı durumlarda mümkün olduğunca uygun hale getirmek için gerekli uygulamalar yapılmalıdır. Türkiye topraklarının yaklaşık %60'ı hafif alkali ve alkali grupta yer almaktadır (Güçdemir, 2006). Toprakların tekstürel özellikleri ve kireç içerikleri en az değişiklik gösteren özelliklerindendir fakat organik madde, pH ve besin elementi içerikleri çeşitli uygulamalar ile iyileştirilerek yetiştiricilik için daha uygun hale getirebilir. Toprakların tamponlama özellikleri nedeniyle pH değerlerinin değiştirilmesi ve değiştirilen pH değerlerini uzun süreli aynı seviyede tutmak yetiştiriciler için maliyetli olmaktadır (Tisdale ve Nelson, 1975). Toprak pH'sının düzenlenmesi için yapılan uygulamaların amacı ağaçların aktif olarak geliştikleri dönemde toprak pH'sını uygun hale getirmektir.

Toprak pH'sının kation değişim kapasitesi (KDK) üzerine önemli etkisi vardır. Toprakta besin elementlerinin tutulması ve tutulan bu besin elementinin bitkiler tarafından kullanılması KDK ile ilişkilidir. pH'nın düşük olması ile yani toprak çözeltisinde fazla miktarda bulunan hidrojen (H⁺) kationları negatif yüzeylerde tutularak bitki besin elementlerinin toprak çözeltisine geçmesini sağlayarak bitkiler tarafından kullanımını artırır. Molekül çapı ve yük yoğunluğu besin elementinin alımını etkiler. Demir (Fe), mangan (Mn), bakır (Cu) ve çinko (Zn) gibi metalik özellikteki elementler iyonlaştığı zaman +2 veya +3 değerlik kazanmaktadır. Bu yüzden söz konusu besin elementleri pH'nın yüksek dolayısıyla H⁺ iyonları konsantrasyonunun düşük olduğu bazik şartlarda toprakta kuvvetli bir şekilde adsorbe edilerek yayılsızlığı azalmaktadır. Bazik kationlar olarak adlandırılan potasyum (K⁺), kalsiyum (Ca²⁺), magnezyum (Mg²⁺) ve sodyum (Na⁺) diğer kationlara göre çapları büyük olduğundan toprak partikülleri tarafından kuvvetli bir şekilde tutulamaz ve dolayısıyla toprak çözeltisinde bitkiler tarafından alınabilir şekilde bulunur (McCauley ve ark., 2009). Besin elementlerinin yayılsız olabilmesi için diğer toprak faktörleri tarafından etkilenmeden toprak çözeltisinde uzun süre bulunabilmelidir (Vossen, 2006). Genelde toprak

pH'sı 6.5-8.0 arasında olması azot (N), K, Ca, Mg ve kükürt (S) için; 5.0-7.0 arasında olması, bor (B), Cu, Fe, Mn ve Zn için ve 5.5-7.5 arasında olması P için arzu edilen aralıklardır. (Manitoba, 2013; McCauley ve ark., 2009).

Toprak pH'sının düşürülmesinde ya da yükseltilmesinde çeşitli maddeler etkili olmaktadır. Kükürtlü bileşikler, sönmüş veya sönmemiş kireç, kimyasal gübreler ve organik madde bunlar arasında yer almaktadır (Güneri ve ark., 2012; McCauley ve ark., 2009). Toprak pH'sının azaltılmasında en ekonomik kaynak elementel kükürttür. Toprağa karışan kükürdün toprakta birçok kimyasal reaksiyonla yapısı değişmektedir (Kaymak, 2011). Bu süreçte elementel kükürt bakteriler tarafından sülfürik aside (H_2SO_4) dönüşerek toprak pH'sını düşürür. Diğer bir materyal demir sülfattır. Fakat kükürtte göre çok fazla kullanıldığından maliyeti yüksektir. Demir sülfatın reaksiyonu çok hızlıdır ve bu tuzlar Fe ve H_2SO_4 'e ayrışır. Kükürt içeren diğer bir materyal Alüminyum sülfattır. Fakat bu materyalin yüksek dozları bitkiler için toksik etki oluşturduğundan kullanımı sınırlıdır. Nitrik asit, hidroklorik asit, fosforik asit, sülfürik asit gibi sıvı asitler pH ayarlanmasında özellikle damla sulama sisteminin

kullanılabildiği yetiştirme sistemlerinde kolaylıkla kullanılmaktadır (Longstroth, 2012).

Bu çalışmada; toprak pH'sının düşürülmesinde etkili olduğu düşünülen demir sülfat, hidroklorik asit, bentonitli kükürt ve sıvı kükürdün kiraz ağaçlarının taç izdüşümünde belli bir alana uygulanarak topraktaki pH, elektriksel iletkenlik (EC), bitkiye yarayışlı Fe, Cu, Mn ve Zn değerlerinin dönemsel değişimi ve bu değişimin yaprakların N, P, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Mn, Zn ve B içerikleri ve meyve kalitesi üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Kimyasallar tüm taç iz düşümüne değil sınırlı bir alana uygulanmıştır. Sınırlı alana uygulanmasında aynı miktar kimyasalla toprak özelliklerinde daha fazla değişimin olması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Deneme materyali ve deneme alanı:

Bu çalışma 2017 Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (Eğirdir-Isparta) araştırma arazisinde bulunan Gisela 6 anacı üzerine aşılı tam verime ulaşmış (7 yaşında) 0900 Ziraat kiraz (*Prunus avium*) çeşidi üzerinde yürütülmüştür. Uygulama bahçesinin toprak özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Deneme alanının toprak özellikleri

Table 1. Soil characteristics of the trial area

Saturasyon Saturation (%)	Kum Sand (%)	Silt Silt (%)	Kil Clay (%)	Tekstür Texture	Kireç Lime (%)	Organik Madde Organic matter (%)	Bitkiye Yarayışlı Extractable			
							P (mg kg ⁻¹)	K (mg kg ⁻¹)	Ca (mg kg ⁻¹)	Mg (mg kg ⁻¹)
57	31.1	38.5	30.4	Killi tın	13.2	2.1	27	256	3927	398

Denemenin kurulması ve uygulamalar

Kültürel uygulamaların (sulama, gübreleme vb.) eşit koşullarda uygulanmış olup, tesadüf blokları deneme desenine göre 4 tekerrürlü olarak (her tekerrürde 1 ağaç) kurulan denemede pH düşürücü ıslah materyalleri olarak demir sülfat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$), hidroklorik asit (HCl; %37), bentonitli kükürt (%90 S, %10 bentonit) ve sıvı kükürt (%80 S) kullanılmıştır. Kontrol grubunda ise herhangi bir ıslah materyali uygulanmamıştır. Hidroklorik asit ve sıvı kükürt 1 litre su ile

seyreltilerek, demir sülfat ve bentonitli kükürt ise seyreltme olmaksızın doğrudan toprağa uygulanmıştır. Ağaçların her iki tarafında taç iz düşümlerinde 30 x 200 cm boyutlarında (0.6 m²) sınırlandırılmış alanlar oluşturularak uygulamalar bu alanlara yani toplam 1.2 m² alana yapılmıştır (Şekil 1). Demir sülfat ve bentonitli kükürt uygulamaları tam doz olarak 1 uygulama ile gerçekleştirilirken, sıvı kükürt 3 ve HCl 6 farklı dönemde uygulanmıştır. Uygulamalara ait detaylı bilgiler Çizelge 2'de sunulmuştur.



Şekil 1. pH düşürücü ıslah materyallerinin uygulanması

Figure 1. Applying pH-reducing amendment materials

Çizelge 2. Uygulama dozu, sayısı ve zamanı

Table 2. Application dose, number and time

Materyal Material	Uygulama Dozu Application Dose	Uygulama Sayısı Number of Applications	Uygulama Zamanı Application Time
Demir Sülfat	750 g ağaç ⁻¹	1	3 Nisan
Bentonitli kükürt	750 g ağaç ⁻¹	1	3 Nisan
HCl	50 ml ağaç ⁻¹ (Her uygulamada)	6	9 Nisan, 23 Nisan, 7 Mayıs, 21 Mayıs, 4 Haziran, 18 Haziran
Sıvı Kükürt	100 ml ağaç ⁻¹ (Her uygulamada)	3	9 Nisan, 7 Mayıs, 4 Haziran

Toprak örnekleme, analize hazırlanması ve toprak örneklerinde yapılan analizler

Toprak örnekleri, 0-30 cm derinlikten ilk uygulamayı (3 Nisan) takip eden 2 haftalık periyotlar ile toplam 6 dönemde (16 Nisan, 30 Nisan, 14 Mayıs, 28 Mayıs, 11 Haziran, 25 Haziran) alınmıştır. Alınan örnekler Kacar (2012)'in belirttiği şekilde analize hazır hale getirilmiştir ve pH, EC, bitkiye yararlı Fe, Cu, Mn ve Zn analizleri yapılmıştır pH ve EC ($\mu\text{S cm}^{-1}$) saturasyon çamurunda cam elektrotlu pH metre ve EC metre ile belirlenmiştir (Jackson, 2005). Bitkiye yararlı Fe, Zn, Cu, Mn için dietilen triamin penta asetik asit (DTPA) ile ekstraksiyon yapılmıştır (Lindsay ve Norvell, 1978) ve İndüktif Eşleşmiş Plazma- Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) cihazı ile

okunmuştur.

Yaprak örnekleme, analize hazırlanması ve yaprak örneklerinde yapılan analizler

Yaprak örnekleri vejetasyon ortasında (2 Temmuz) ağaçların taç bölgesinde bulunan bir yıllık sürgünlerin ortasından gelişmesini tamamlamış en genç yapraklardan toplanarak (Hoying et al., 2004) laboratuvara getirilmiş ve gerekli yıkama işlemleri yapılmıştır. Yıkanan yaprak örnekleri etüvde 65 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutularak ve 0.5 mm elek çapına sahip değirmende öğütülmüştür. Toplam N analizi için Kjeldahl yaş yakma yöntemi; toplam P, K, Ca, Mg, B, Fe, Cu, Mn, Zn ve B analizi için kuru yakma yöntemi uygulanmış ve okumalar ICP-OES cihazı ile yapılmıştır (Ryan ve

ark., 2001).

Meyve örnekleme, örneklerin analize hazır hale getirilmesi, yapılan ölçümleme ve analizler, verim değerinin belirlenmesi

Meyve örnekleme, hasat zamanında (22 Haziran) gerçekleştirilmiştir. Örnekleme, her uygulamanın tekerrürlerini temsil edecek şekilde ağacın 4 tarafından alınan 100 adet meyveden tesadüfen seçilen 10 adet meyve ile gerçekleştirilmiştir. Meyve eni 0.01 hassasiyetli dijital kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Meyve eti sertliği, (4.5 mm uçlu penetrometre) tekstür analiz cihazı (Güss FTA Type GS14, Strand, South Africa) ile ölçülecek ve sonuçlar Newton (N) birimi olarak verilmiştir. Meyve kabuğundaki renk değişimleri (L^* , a^* , b^* , C^* ve h°) CR-400 model (Minolta Co. Ltd., Japonya) renk cihazıyla ölçülmüştür. Titre edilebilir asitlik (TEA), pH ve suda çözülebilir kuru madde (SÇKM) analizleri için meyve örnekleri öncelikle çekirdeklerinden ayrılmıştır. Ardından katı meyve sıkacağı ile elde edilen meyve suyunda asitlik otomatik titratör (Mettler Toledo T50) ile malik asit cinsinden, pH değeri dijital pH metre ile, SÇKM ise dijital refraktometre (HI 96801 model Hanna, UK) ile belirlenmiştir (Karaçalı, 1993). Verim değeri, deneme ağaçlarından hasat edilen meyveler tartılarak, ağaç başına belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler

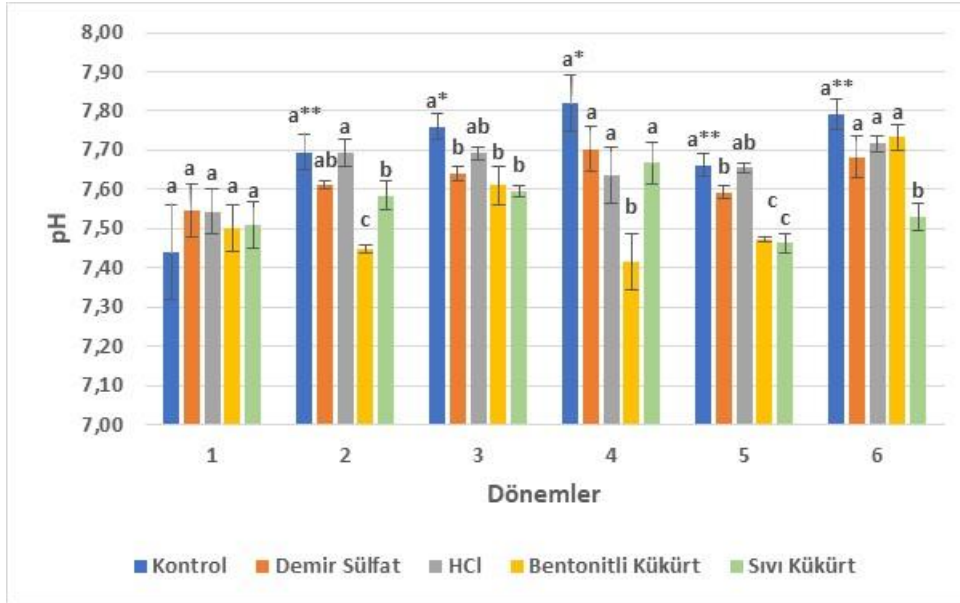
İstatistik analizler için paket program (JMP) kullanılmıştır. Bu paket program ile normal dağılım analizi yapılarak ekstrem değerler atılmıştır. Varyans analizlerinde uygulamalar arasındaki farklılık önemli olduğu durumlarda asgari önemli fark (LSD) çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve istatistiksel farklılıkların tahmin edilmesinde $P<0.05$ ve $P<0.01$ önem dereceleri kullanılmıştır. Söz konusu paket program ile toprak pH'sı ile EC değerleri arasındaki korelasyon incelenmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Uygulamanın başlangıcında (1. dönem) birbirinden farklılık göstermeyen pH değerleri zaman geçtikçe aynı dönem içinde uygulamalara göre farklılık göstermiş ve en düşük değerler 2. dönemde bentonitli kükürt; 3. dönemde sıvı kükürt; 4. dönemde bentonitli kükürt; 5. dönemde sıvı kükürt; 6. dönemde sıvı kükürt uygulamasından elde edilmiştir. 1. dönem dışındaki tüm dönemlerde herhangi bir materyalin uygulanmadığı kontrol uygulamasında en yüksek değerler gerçekleşmiştir (Şekil 2). Her dönemdeki pH değerindeki değişimler kontrol uygulamasına göre 2. dönemde bentonitli kükürt uygulamasında 0.25 birimlik, 3. dönemde sıvı kükürt uygulamasında 0.16 birimlik, 4. dönemde bentonitli kükürt uygulamasında 0.33 birimlik, 5. dönemde sıvı kükürt uygulamasında 0.20 birimlik, 6. dönemde sıvı kükürt uygulamasında 0.26 birimlik düşüş gerçekleşmiştir. Her dönemdeki uygulamalar arasında farklılık olduğu gibi her uygulamanın dönemleri arasında da uygulamaya bağlı olarak (kontrol, bentonitli kükürt ve sıvı kükürt) pH değişiminde farklılıklar oluşmuştur (Çizelge 3).

Soliman ve ark. (1992) mısır bitkisinde yaptıkları bir saks ı çalışmasında pH değeri 8.3 olan kaba tekstürlü kireçli bir toprakta kükürt (S) uygulamasının etkisini incelemişlerdir. Artan miktarlarda 1000, 3000, 6000 mg kg⁻¹ S ilave edilmesi toprak pH'sında sırasıyla 0.2, 0.5 ve 0.9 birim düşüşe neden olmuştur. Güneri (2007), limon ve portakal bahçelerinde kükürt, jips ve amonyum sülfat uygulamaları içinde pH'nın düşürülmesinde en etkili yöntemin elementel kükürt uygulaması olduğu sonucuna varmıştır. Murovhi (2013), 13 yaşındaki Valencia portakal çeşidinde yaptığı çalışmada 0, 60, 120, 180 ve 240 g S ağaç⁻¹ olacak şekilde kükürt uygulamasının artan kükürt seviyesine bağlı olarak toprak pH'sında azalma meydana getirdiğini tespit etmiştir. Uçgun ve ark. (2019) hububat tarımında sulu kükürt, bentonitli kükürt + çiftlik gübresi, leonardit uygulamaları içinde bentonitli kükürt +

çiftlik gübresi uygulamasının yapıldığı parselde en düşük pH değerlerini elde etmişlerdir.



Şekil 2. Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verime ulaşmış kiraz bahçelerinde toprağa uygulanan pH düşürücü ıslah materyallerinin Uygulamaların toprak pH'sı üzerine etkisi. Farklı harfler uygulamalar arasındaki farkı, * 0.05 düzeyinde önem seviyesini, ** 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir. Dikey çubuklar ortalama $\pm$ standart hatayı gösterir.

Figure 2. The effect of pH-reducing amendment materials applied to the soil on the soil pH in sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock with full yield. Different letters indicate the difference between treatments, * indicates the significance level at 0.05 level, ** indicates the significance level at 0.01 level. Vertical bars represent the average $\pm$ standard error.

Çizelge 3. Her uygulamadaki pH değerlerinin dönemlere göre değişimi

Table 3. Variation of pH values in each treatment according to the periods

Uygulamalar Treatments	Toprak Örnekleme Dönemleri Soil Sampling Periods					
	1	2	3	4	5	6
Kontrol	7.44 b	7.70 a	7.76 a	7.82 a	7.66 a	7.79 a**
Demir Sülfat	7.55 a	7.61 a	7.64 a	7.70 a	7.59 a	7.68 a
HCl	7.54 a	7.69 a	7.69 a	7.64 a	7.66 a	7.72 a
Bentonitli Kükürt	7.50 bc	7.45 c	7.61 ab	7.42 c	7.47 bc	7.73 a**
Sıvı Kükürt	7.51 bc	7.59 abc	7.60 ab	7.67 a*	7.46 c	7.53 bc

Harfler her satırdaki sayıları karşılaştırır. Aynı harfler istatistiksel olarak sayılar arasında farklılığın olmadığını, farklı harfler farklılığın olduğunu gösterir. *: 0.05 düzeyinde önem seviyesini ifade eder. **: 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade eder.

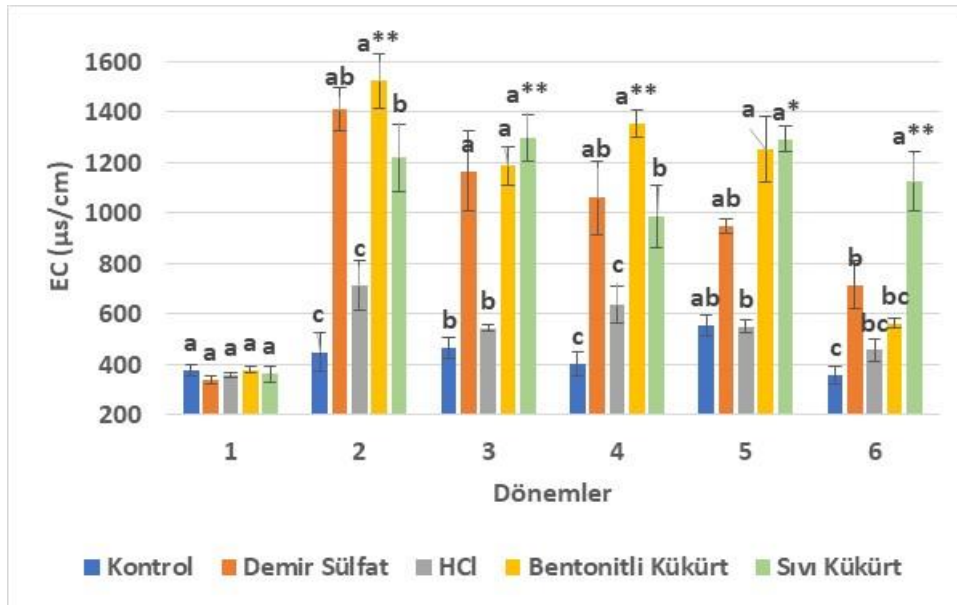
Vejetasyon başlangıcında (16 Nisan) birbirine çok yakın olan EC değerleri, vejetasyon ilerledikçe her dönem kendi içinde değerlendirildiğinde uygulamalara göre aralarında önemli farklılıklar oluşmuştur. En yüksek değerlerin olduğu uygulamalar dönemlere göre değişmiş 2. ve 4. dönemde bentonitli kükürt, 3, 5 ve 6. dönemlerde sıvı kükürt uygulamasında oluşmuştur. Özellikle bentonitli kükürt ve sıvı kükürt uygulamalarında oluşan bu yüksek değerler kiraz ağaçlarının verimini olumsuz etkileyebilecek düzeylere kadar ulaşmıştır (Şekil 3). Kontrol uygulamasına göre 2.

dönemde bentonitli kükürt uygulamasında 1076 birimlik, 3. dönemde sıvı kükürt uygulamasında 835 birimlik, 4. dönemde bentonitli kükürt uygulamasında 955 birimlik, 5. dönemde sıvı kükürt uygulamasında 444 birimlik, 6. dönemde sıvı kükürt uygulamasında 769 birimlik artış gerçekleşmiştir. Uygulamalar arasında farklılık olduğu gibi her uygulamaya ait dönemler arasında da kontrol uygulaması dışında EC değişiminde farklılıklar oluşmuştur (Çizelge 4).

Kotuby-Amacher ve ark. (2000) kiraz ağaçlarının tuz toleransının diğer ılıman iklim

meyvelere göre düşük ve eşik değerin $900 \mu\text{s cm}^{-1}$ olduğunu ve bu değer $1900 \mu\text{s cm}^{-1}$ olduğunda ise verimde %10 azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada uygulamalara göre değişmekle birlikte toprağın EC değerleri $1500 \mu\text{s cm}^{-1}$ değerlerine kadar yükselmiştir. Toprak çözeltisinde tuz seviyesinin artması verimde azalmalara neden olduğu gibi bitkide

morfolojik (Erturk ve ark., 2007) ve fizyolojik (Aras ve Eşitken, 2018; Eraslan ve ark., 2016) değişimlere de neden olmaktadır. Ayrıca tuzlu şartlarda bitkiler toprakta bulunan besin elementlerinden de yeterince yararlanamadığı yapılan çalışmalarda belirlenmiştir (Lacerda ve ark., 2018; Ribeiro ve ark., 2021).



Şekil 3. Gisela 6 anacı üzerine aşıları tam verime ulaşmış kiraz bahçelerinde toprağa uygulanan pH düşürücü ıslah materyallerinin toprak tuzluluğu üzerine etkisi. Farklı harfler uygulamalar arasındaki farkı, * 0.05 düzeyinde önem seviyesini, ** 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir. Dikey çubuklar ortalama $\pm$ standart hatayı gösterir.

Figure 3. The effect of pH-reducing amendment materials applied to the soil on the soil salinity in sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock with full yield. Different letters indicate the difference between treatments, * indicates the significance level at 0.05 level, ** indicates the significance level at 0.01 level. Vertical bars represent the average $\pm$ standard error.

Çizelge 4. Her uygulamadaki EC değerlerinin dönemlere göre değişimi

Table 4. Variation of EC values in each treatment according to the periods

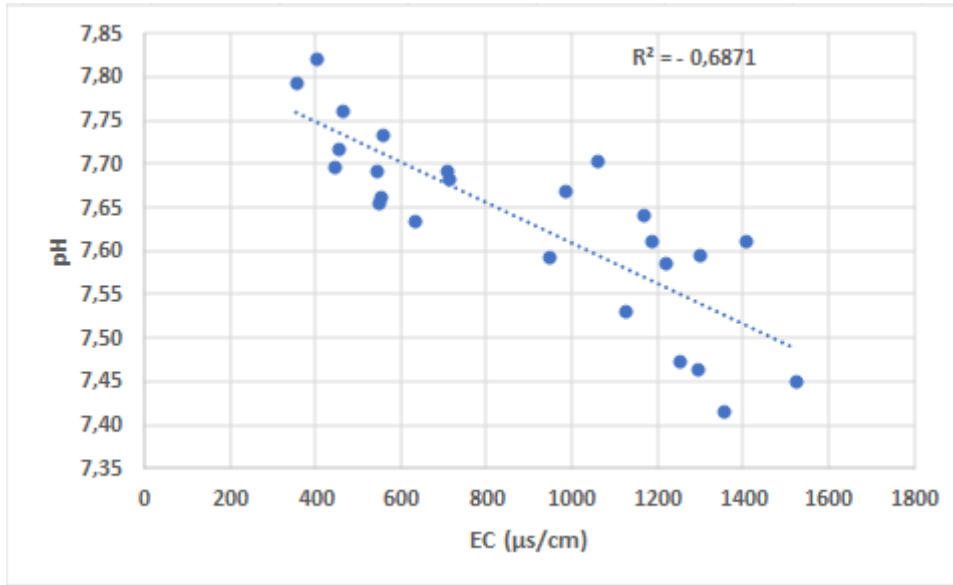
Uygulamalar Treatments	Toprak Örnekleme Dönemleri Soil Sampling Periods					
	1	2	3	4	5	6
Kontrol	375 a	448 a	464 a	403 a	555 a	356 a
Demir Sülfat	338 d	1410 a**	1166 ab	1062 b	948 bc	715 c
HCl	358 d	711 a**	543 bc	636 ab	550 abc	456 cd
Bentonitli Kükürt	379 b	1524 a**	1187 a	1358 a	1251 a	561 b
Sıvı Kükürt	362 c	1218 ab	1299 a**	986 b	1295 a	1125 ab

Harfler her satırdaki sayıları karşılaştırır. Aynı harfler istatistiksel olarak sayılar arasında farklılığın olmadığını, farklı harfler farklılığın olduğunu gösterir. **: 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade eder.

pH'nın yüksek olduğu uygulamalarda düşük olan EC değerleri, pH'nın düşük olduğu uygulamalarda ise yüksek seviyelerde olmuştur (Şekil 2, Şekil 3). Hem pH hem de EC değerleri üzerine uygulamaların etkisi olmadığı 1. dönem hesaba katılmazsa diğer dönemlerde elde edilen

pH ve EC değerleri arasında istatistiksel olarak önemli negatif korelasyon (-0.68^{**}) elde edilmiştir (Şekil 4). Aizat ve ark. (2014) pH'nın çözünabilir tuz miktarını arttırarak EC üzerine arttırıcı etkisi olduğunu ifade etmiştir. Smith ve Doran (1997) yaptıkları çalışmada EC ve pH arasında negatif bir

korelasyon olduğunu tespit etmiştir. Benzer sonuçları Aini ve ark. (2014)'da ifade etmiştir.



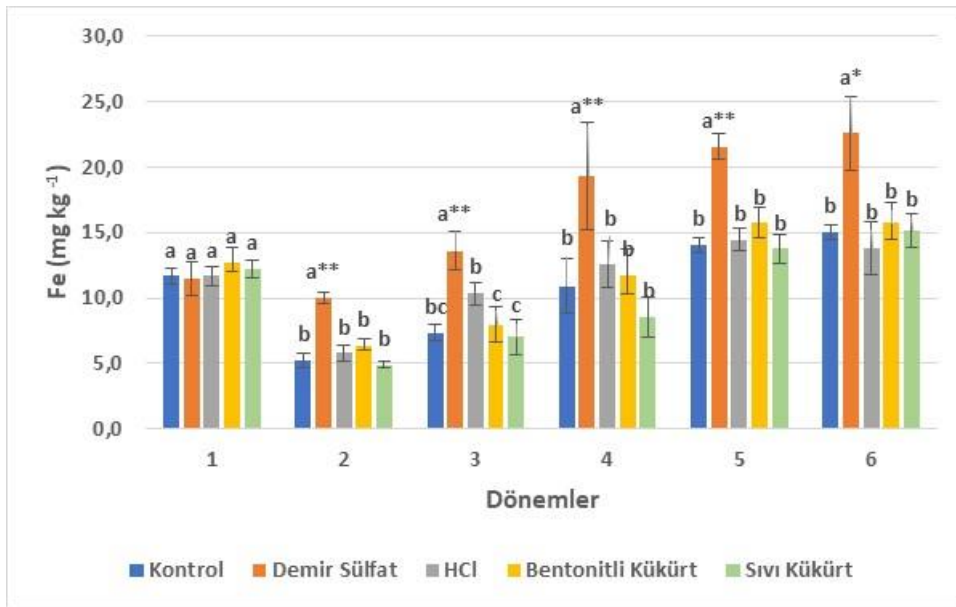
Şekil 4. Gisela 6 anacı üzerine aşıllı bir kiraz bahçesinin toprağında toprak pH'sı ve tuzluluğu arasındaki korelasyon

Figure 4. Correlation between soil pH and salinity at soil of sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock

Toprakların bitkiye yarayışlı Fe içerikleri değerlendirildiğinde; 1. dönem dışındaki tüm dönemlerde demir sülfatın diğer uygulamalara göre içerdiği yüksek Fe miktarına orantılı olarak Fe içerikleri istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (Şekil 5). Bakır içerikleri uygulamaya bakılmaksızın sezon boyunca artış göstermiştir. Sadece 6. dönemde uygulamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli olmuş ve sıvı kükürt uygulamasında en yüksek değer elde edilirken en düşük değer demir sülfat uygulamasında olmuştur (Şekil 6). Toprakların Mn içeriği yönünden ilk 3 dönemde uygulamalar açısından bir farklılık bulunmamış fakat 4, 5 ve 6. dönemde istatistiksel olarak uygulamalara göre farklılıklar elde edilmiştir. Söz konusu dönemlerdeki Mn, bentonitli kükürt uygulamasında en yüksek seviyelerde gerçekleşmiştir. Diğer uygulamalarda birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir (Şekil 7). Toprakların bitkiye yarayışlı Zn kapsamı üzerine demir sülfatın etkisi çok dikkat çekici olmuştur. İlk dönem dışındaki diğer dönemlerde demir sülfat uygulamasının diğer uygulamalara göre Zn üzerindeki etkisi diğer uygulamaların kendi arasındaki farklılığı gölgede bırakmıştır. Yani demir

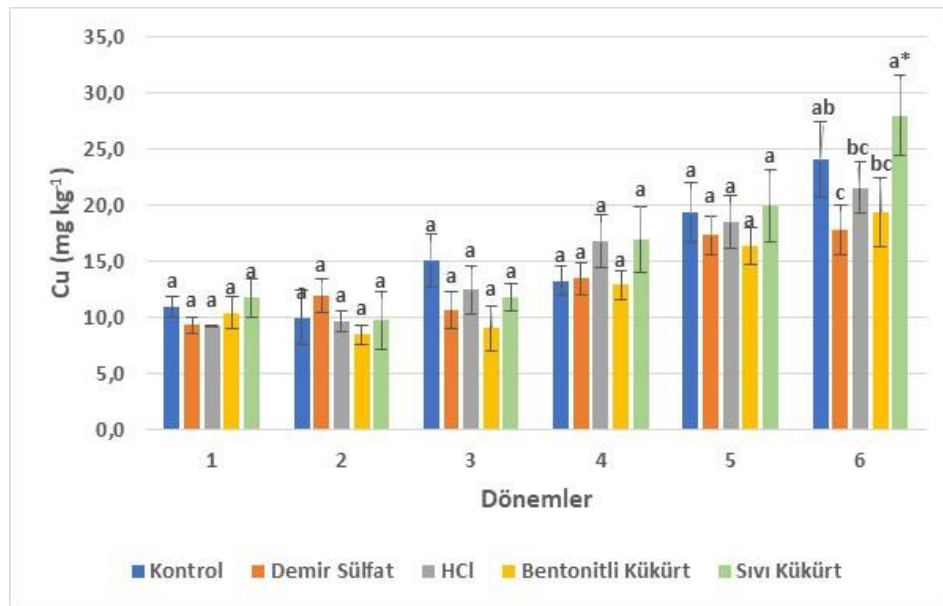
sülfat dışındaki tüm uygulamalar aynı grupta yer almıştır. Diğer uygulamalarda en fazla 5 mg kg⁻¹'a ulaşan Zn seviyesi, demir sülfat uygulamasında 35 mg kg⁻¹'a kadar yükselmiştir. Şayet demir sülfat uygulaması dikkate alınmazsa diğer uygulamalarda tüm dönemlerde sıvı kükürt öne çıkmıştır (Şekil 8).

Toprak pH'sının düşük olması ortamda H⁺ iyonlarının yükselmesi anlamına gelmektedir. H⁺ iyonları ise toprak yüzeyinde kuvvetli bir şekilde tutularak Cu, Mn, Fe, Zn gibi metal özellikte besin elementlerinin toprak yüzeyine tutulmasını azaltır ve toprak çözeltisinde daha uzun süreli yarayışlı halde kamasını sağlar (McCauley ve ark., 2009). Rengel (2001), Fe ve Mn'nin hareketliliği toprak pH'sı tarafından kuvvetli bir şekilde etkilendiğini ve pH'nın 1 birim değişmesine karşılık Fe⁺³'ün aktivitesinde 1000 kat Fe⁺²'nin aktivitesinde 100 kat değişme olduğunu bildirmiştir. Uçgun ve ark. (2019) toprak pH'sının düşürülmesi amacıyla sulu kükürt, bentonitli kükürt + çiftlik gübresi ve leonardit'in ekimle birlikte uygulandığı arpa yetiştiriciliği yapılan bir alanda bentonitli kükürt + çiftlik gübresi uygulamasının yapıldığı parselde en düşük pH değerini ve en yüksek bitkiye elverişli Fe ve Mn değerlerini elde etmişlerdir.



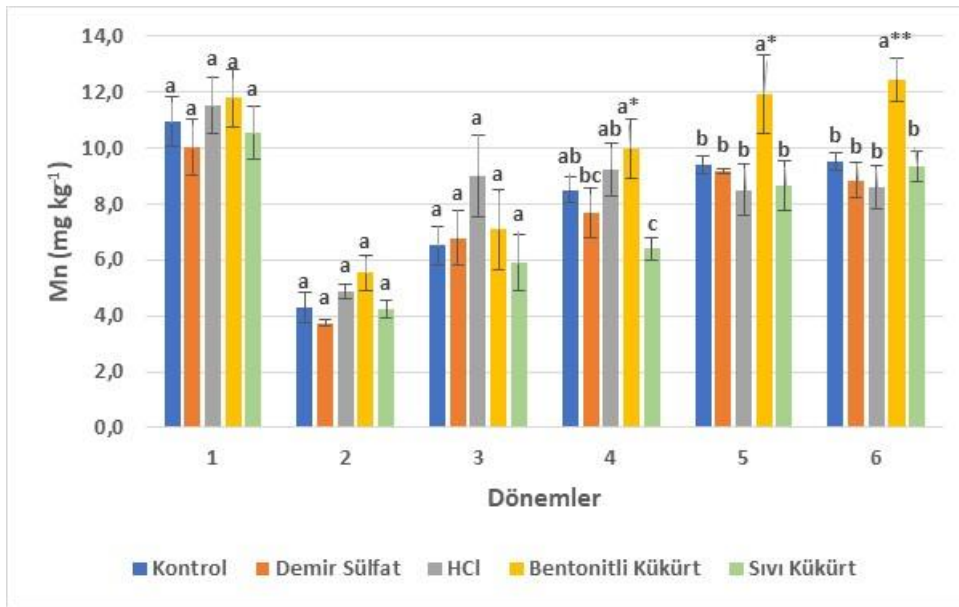
Şekil 5. Gisela 6 anacı üzerine aşıllı tam verime ulaşmış kiraz bahçelerinde toprağa uygulanan pH düşürücü ıslah materyallerinin bitkiye yararışlı Fe üzerine etkisi. Farklı harfler uygulamalar arasındaki farkı, ** 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir. Dikey çubuklar ortalama $\pm$ standart hatayı gösterir.

Figure 5. The effect of pH-reducing amendment materials applied to the soil on the plant-available Fe in sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock with full yield. Different letters indicate the difference between treatments, ** indicates the significance level at 0.01 level. Vertical bars represent the average $\pm$ standard error.



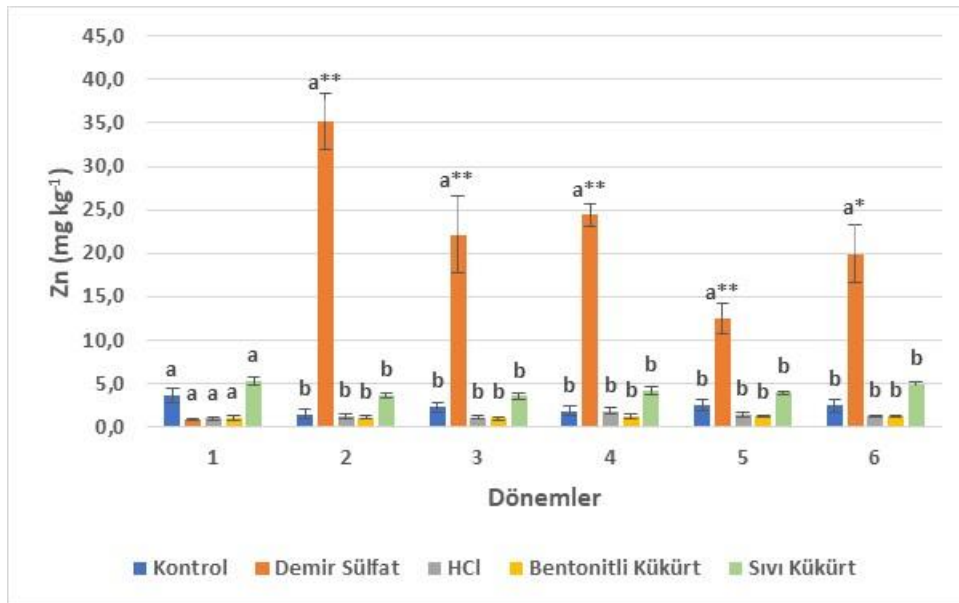
Şekil 6. Gisela 6 anacı üzerine aşıllı tam verime ulaşmış kiraz bahçelerinde toprağa uygulanan pH düşürücü ıslah materyallerinin Uygulamaların bitkiye yararışlı Cu üzerine etkisi. Farklı harfler uygulamalar arasındaki farkı, * 0.05 düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir. Dikey çubuklar ortalama $\pm$ standart hatayı gösterir.

Figure 6. The effect of pH-reducing amendment materials applied to the soil on the plant-available Cu in sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock with full yield. Different letters indicate the difference between treatments, * indicates the significance level at 0.05 level. Vertical bars represent the average $\pm$ standard error.



Şekil 7. Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verime ulaşmış kiraz bahçelerinde toprağa uygulanan pH düşürücü ıslah materyallerinin bitkiye yarıyışlı Mn üzerine etkisi. Farklı harfler uygulamalar arasındaki farkı, * 0.05 düzeyinde önem seviyesini, ** 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir. Dikey çubuklar ortalama $\pm$ standart hatayı gösterir.

Figure 7. The effect of pH-reducing amendment materials applied to the soil on the plant-available Mn in sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock with full yield. Different letters indicate the difference between treatments, * indicates the significance level at 0.05 level, ** indicates the significance level at 0.01 level. Vertical bars represent the average $\pm$ standard error.



Şekil 8. Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verime ulaşmış kiraz bahçelerinde toprağa uygulanan pH düşürücü ıslah materyallerinin bitkiye yarıyışlı Zn üzerine etkisi. Farklı harfler uygulamalar arasındaki farkı, * 0.05 düzeyinde önem seviyesini, ** 0.01 düzeyinde önem seviyesini ifade etmektedir. Dikey çubuklar ortalama $\pm$ standart hatayı gösterir.

Figure 8. The effect of pH-reducing amendment materials applied to the soil on the plant-available Zn in sweet cherry orchard grafted on Gisela 6 rootstock with full yield. Different letters indicate the difference between treatments, * indicates the significance level at 0.05 level, ** indicates the significance level at 0.01 level. Vertical bars represent the average $\pm$ standard error.

Yaprakların besin elementi konsantrasyonları uygulamalara göre değerlendirildiğinde istatistiksel olarak herhangi bir farklılık oluşmadığı görülmektedir. Sonuçlar Anonim (2012) ile karşılaştırıldığında denemenin yürütüldüğü kiraz

ağaçlarının yapraklarında toplam P (%0.23-0.38), Ca (%1.60-2.60), Fe (50-250 mg kg⁻¹), Cu (6-25 mg kg⁻¹), Mn (18-150 mg kg⁻¹) ve B (39-80 mg kg⁻¹) konsantrasyonları sınır değerleri içinde yani yeterli, toplam K (%1.00-1.90) sınır değerlerinin üzerinde

yani yüksek, N (%2.30-3.30), Mg (%0.49-0.65) ve Zn (20-200 mg kg⁻¹) ise sınır değerlerinin altında yani düşük seviyelerde olmuştur (Çizelge 5 ve 6). Yapraklarda analizlere göre düşük seviyede bulunan N, Mg ve Zn'nun görsel eksiklik belirtilerine rastlanmamıştır. Özellikle demir sülfat uygulamasının yapıldığı topraklarda çok yüksek miktarlarda bitkiler tarafından alınabilir formda Zn tespit edilmesine rağmen yaprak analizlerinde düşük olması dikkat çekici olmuştur. Yaprakların besin elementi içeriğine birçok faktör etki etmekle birlikte özellikle topraktaki pH ve EC değerinin daha etkili olduğu düşünülmektedir. Fakat yapılan bu çalışmada pH düşürücü ıslah materyallerinin toprakların EC ve pH değerleri üzerine önemli etkileri olmasına rağmen bu toprak özelliklerinin bitkilerin beslenme durumu üzerine önemli etkileri gerçekleşmemiştir. Çalışmanın yapıldığı toprak özellikleri incelendiğinde bitkiye yarıyışlı besin elementlerinin yeterli, organik madde ve kireç içeriklerinin kiraz yetiştiriciliği için uygun değerlerde olduğu görülmektedir (Çizelge 1). Bunun yanında uygulamaların sınırlı alanlara yapılması beklenen etkinin görülmemesine neden olabilir. Yapılan birçok çalışmada özellikle toprak tuzluluğu ile bitki beslenmesi arasında ilişkiler olduğu tespit edilmiştir. Hu ve Schmidhalter (2005), tuz stresinin olduğu durumlarda önce ozmotik stresin oluştuğunu ve ozmotik stresin devamında ortaya çıkan iyon stresi evresinde, ortamda artan Na⁺ ve Cl⁻ iyonlarının K⁺, Ca²⁺ ve nitrat (NO₃⁻) gibi gerekli besin elementleri ile rekabete girmesiyle bitkilerde besin eksikliği veya dengesizlik meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Lacerda ve ark. (2018), mısır bitkisinde yaptıkları bir çalışmada; tuzlu şartlarda ihtiyacı kadar

uygulanan N ve K'dan bitkilerin yararlanmadığını ve büyük bölümünün yıkanarak kök bölgesinden uzaklaştığını tespit etmişlerdir. Uçgun ve ark. (2020), ıspanak bitkisinde yaptıkları çalışmada tuz uygulamalarının Ca, Mg ve S alımını önemli derecede azalttığını tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Loupassaki ve ark. (2002) zeytin ağaçlarında yaptıkları çalışmada tuz uygulamalarının N, K, Ca ve Mg alımını önemli derecede düşürdüğünü belirtmişlerdir. Neina (2019) toprak pH'sının toprağın biyolojik, kimyasal ve fiziksel özelliklerini etkileyen en büyük toprak değişkeni olduğunu belirtmiştir. McCauley ve ark. (2009) toprak pH'sının bitki besin elementlerinin yarıyışlılığını etkilediğini maksimum yarıyışlılığın N, K, Ca, Mg ve S için toprak pH'sının 6.5-8.0; B, Cu, Fe, Mn, Ni ve Zn için toprak pH'sının 5.0-7.0 ve P için toprak pH'sının 5.5-7.5 olması gerektiğini belirtmişlerdir. Uçgun (2019), toprak pH'sı üzerine farklı materyallerin etkisini arpa bitkisi kullanarak araştırmışlar ve kullanılan materyaller arasında bentonitli kükürt + çiftlik gübresi uygulamasının yapıldığı parselde en düşük pH değerini ve yüksek bitkiye yarıyışlı Fe ve Mn değerlerini elde etmişlerdir. Aynı zamanda söz konusu uygulama başakların N, P, K, Mg ve Fe içeriği üzerine de etkili olmuş ve Mg hariç diğerlerinde en yüksek değerlerin oluşmasına neden olmuştur. Murovhi (2013), portakal ağaçlarında artan dozda uyguladıkları S'ün toprak pH'sı ile yaprak N, Fe ve B içeriğini azalttığını, yaprak S ve Mg miktarını ise arttırdığını tespit etmiştir. Aka (2008), mandarin ağaçlarında uyguladıkları farklı dozlardaki S'ün yaprak P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn ve Zn içerikleri üzerine arttırıcı Na içeriği üzerine ise azaltıcı etkisinin olduğunu bildirmiştir.

Çizelge 5. pH düşürücü ıslah materyallerinin Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verimdeki 0900 Ziraat çeşidinin yaprak makro besin elementi içerikleri üzerine etkisi

Table 5. The effect of pH-reducing amendment materials on contents of leaf macro nutrients of sweet cherry cv. 0900 Ziraat grafted on Gisela 6 rootstock with full yield.

Uygulamalar Treatments	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Kontrol	2.28 ± 0.05	0.29 ± 0.01	1.98 ± 0.09	1.67 ± 0.09	0.36 ± 0.00
Bentonitli Kükürt	2.18 ± 0.07	0.31 ± 0.02	2.03 ± 0.08	1.70 ± 0.14	0.37 ± 0.00
Demir Sülfat	2.19 ± 0.09	0.31 ± 0.02	2.04 ± 0.14	1.69 ± 0.15	0.37 ± 0.01
HCl	2.16 ± 0.14	0.28 ± 0.01	1.95 ± 0.12	1.61 ± 0.07	0.38 ± 0.01
Sıvı Kükürt	2.25 ± 0.03	0.28 ± 0.03	1.92 ± 0.06	1.63 ± 0.08	0.36 ± 0.01
Önem Seviyesi	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD ±
Referans değer*	2.30-3.30	0.23-0.38	1.0-1.90	1.60-2.60	0.49-0.65

*: Anonim (2012); ÖD: önemli değil; Değerler kuru ağırlık üzerinden ifade edilmiştir; Çizelgedeki değerler ortalama ± standart hatayı gösterir.

Çizelge 6. pH düşürücü ıslah materyallerinin Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verimdeki 0900 Ziraat çeşidinin yaprak mikro besin elementi içerikleri üzerine etkisi

Table 6. The effect of pH-reducing amendment materials on contents of leaf micro nutrients of sweet cherry cv. 0900 Ziraat grafted on Gisela 6 rootstock with full yield.

Uygulamalar Treatments	Fe (mg kg ⁻¹)	Cu (mg kg ⁻¹)	Mn (mg kg ⁻¹)	Zn (mg kg ⁻¹)	B (mg kg ⁻¹)
Kontrol	71.07 ± 2.97	11.01 ± 0.37	26.82 ± 1.14	13.14 ± 0.67	53.87 ± 1.24
Bentonitli Kükürt	74.26 ± 3.94	11.84 ± 0.46	28.85 ± 1.76	13.15 ± 1.23	53.80 ± 0.99
Demir Sülfat	65.57 ± 3.20	11.14 ± 0.63	25.69 ± 1.42	12.97 ± 1.35	52.17 ± 1.78
HCl	69.33 ± 1.46	17.08 ± 0.51	28.44 ± 1.64	12.33 ± 1.00	55.28 ± 0.87
Sıvı Kükürt	69.38 ± 5.53	12.17 ± 1.68	25.64 ± 1.73	12.33 ± 0.96	52.86 ± 1.76
Önem Seviyesi	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
Referans değer*	50-250	6-25	18-150	20-200	39-80

*: Anonim (2012); ÖD: önemli değil; Değerler kuru ağırlık üzerinden ifade edilmiştir; Çizelgedeki değerler ortalama ± standart hatayı gösterir.

Ağaçların verim ve meyvelerin pomolojik özellikler incelendiğinde verim değerleri 23.7 kg ağaç⁻¹ (HCL uygulaması) ile 31.3 kg ağaç⁻¹ (bentonitli kükürt uygulaması) arasında değişmiştir. Pomolojik özelliklerden meyve eni 21.9 mm (HCL) ile 23.8 mm (sıvı kükürt uygulaması); sertlik 10.7 N (demir sülfat uygulaması)-11.5 N (sıvı kükürt uygulaması); SÇKM %15.3 (bentonitli kükürt uygulaması) ile %17.2 (kontrol uygulaması); pH 0.19 (sıvı kükürt uygulaması) ile 0.27 (kontrol uygulaması) arasında değişmiştir. Titre edilebilir asitlik en düşük kontrol uygulamasında (0.91) elde edilirken demir sülfat, HCl ve sıvı kükürt uygulamalarında yüksek (0.95) değer elde edilmiştir. Meyve renginin belirlenmesinde L* (parlaklık), a* [kırmızı (+) – yeşil (-)], b* [sarı (+) – mavi (-)], h° (hue açısı) ve C* (renk yoğunluğu) değerleri kullanılmaktadır. Kiraz meyvesinde renk, önemli bir kalite kriteri olması nedeniyle özellikle a* değeri ile rengin yoğunluğunu ve parlaklığını gösteren L* ve C* değerleri önemli olmaktadır. Uygulamalara göre

aralarında istatistiksel olarak farklılık olmamasına rağmen sayısal bazı farklılıklar oluşmuştur. En kırmızı ve renk yoğunluğu en fazla olan meyveler bentonitli kükürt uygulamasında ve en parlak meyveler ise kontrol uygulamasından elde edilmiştir. Meyve kalitesini gösteren tüm parametreler beraber değerlendirildiğinde pH düşürücü ıslah materyali uygulamalarının bir etkisi olmamıştır (Çizelge 7 ve 8). Toprak pH'sı üzerine etkili olan uygulamalar topraktaki bazı besin elementlerinin yayılabilirliği üzerine de etkili olmuştur. Fakat toprakta yayılabilirliği artan besin elementinin deneme şartlarında kiraz ağaçlarının beslenmesi üzerine artırıcı bir etkisinin olmadığı yukarıda açıklanmıştır. Bununla birlikte, besin elementlerinin meyvelerin pomolojik özellikleri üzerine etkisi olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir. Örneğin Fallahi ve ark. (2010) besin elementlerinin meyve kalitesini etkilediğini ve bu konuda en önemli besin elementlerinin N, P, K, Ca and B olduğunu bildirmişlerdir. Aka (2008) mandarin ağaçlarında yaptıkları çalışmada artan S

dozlarına bağlı olarak yaprakların P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn ve Zn içerikleri artmasına rağmen meyve büyüklüğünde azalmanın olduğu fakat bu değişimin istatistiksel olarak önemli olmadığını bulmuştur. Murovhi (2013) ise artan S dozlarına bağlı olarak portakal ağaçlarında meyve sayısı ve verimde artışlar olduğunu tespit etmiştir. Sanz ve ark. (1997) şeftali ağaçlarında Fe eksikliğinin erken dönemde teşhis edilmesi ve problemin düzeltilmesiyle meyve büyüklüğünün 2 katına çıktığını tespit etmişlerdir. Anonim (2006) elma

yapraklarında N seviyesinin yüksek olması meyve rengini (kırmızı ve sarı çeşitlerde) ve sertliğini azalttığını ve N seviyesinde %0.1 düzeyinde artışın meyve renginde %5 oranında azalmaya neden olduğunu bildirmiştir. Uçgun (2019) kiraz ağaçlarında yaptıkları çalışmada artan dozda N uygulamalarına bağlı olarak yaprak ve meyvelerin N içeriklerinin arttığını ve bu artışa doğrusal olarak meyve renginde (a değeri) ve sertliğinde artışların olduğunu tespit etmiştir.

Çizelge 7. Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verimdeki 0900 Ziraat kiraz çeşidinin meyve özellikleri üzerine pH düşürücü ıslah materyallerinin etkisi

Table 7. The effect of pH-reducing amendment materials on fruit characteristics of sweet cherry cv. 0900 Ziraat grafted on Gisela 6 rootstock with full yield.

Uygulamalar Treatments	Verim (kg ağaç ⁻¹) Yield (kg tree ⁻¹)	ME (mm) FW (mm)	Sertlik (N) Fruit firmness (N)	SÇKM (%) SSC (%)	pH	TEA (%) TA (%)
Kontrol	28.9 ± 6.36	23.6 ± 0.82	11.1 ± 0.54	17.2 ± 0.65	0.27 ± 0.07	0.91 ± 0.01
Bentonitli Kükürt	31.3 ± 7.48	22.4 ± 0.84	11.1 ± 0.78	15.3 ± 1.15	0.25 ± 0.02	0.92 ± 0.03
Demir Sülfat	29.6 ± 7.32	22.3 ± 0.75	10.7 ± 0.33	16.3 ± 0.72	0.20 ± 0.04	0.95 ± 0.03
HCl	23.7 ± 6.14	21.9 ± 0.50	10.8 ± 0.33	16.6 ± 0.96	0.20 ± 0.01	0.95 ± 0.02
Sıvı Kükürt	28.9 ± 4.28	23.8 ± 0.69	11.5 ± 0.41	16.3 ± 0.90	0.19 ± 0.02	0.95 ± 0.02
Önem Seviyesi	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

ME (FW): meyve eni (fruit width); SÇKM (SSC): suda çözünabilir kuru madde (soluble solids concentration); TEA (TA): titre edilebilir asitlik (titratable acidity); ÖD: önemli değil; ±: standart hata ortalaması

Çizelge 8. Gisela 6 anacı üzerine aşıli tam verimdeki 0900 Ziraat kiraz çeşidinin meyve zemin rengi üzerine pH düşürücü ıslah materyallerinin etkisi

Table 8. The effect of pH-reducing amendment materials on fruit skin color of sweet cherry cv. 0900 Ziraat grafted on Gisela 6 rootstock with full yield.

Uygulamalar Treatments	a*	b*	c*	L*	h°
Kontrol	22.0 ± 0.90	10.1 ± 0.47	24.3 ± 1.02	31.0 ± 0.33	24.5 ± 0.22
Bentonitli Kükürt	24.1 ± 2.14	11.5 ± 1.34	26.8 ± 2.47	30.8 ± 0.66	25.3 ± 0.90
Demir Sülfat	23.0 ± 1.19	10.8 ± 0.54	25.5 ± 1.28	30.7 ± 0.37	25.0 ± 0.59
HCl	22.8 ± 2.12	10.6 ± 1.24	25.1 ± 2.44	30.6 ± 0.31	24.8 ± 0.63
Sıvı Kükürt	21.2 ± 0.91	9.7 ± 0.45	23.4 ± 1.01	30.6 ± 0.37	24.5 ± 0.32
Önem Seviyesi	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

ÖD: önemli değil; ±: standart hata ortalaması

Sonuç ve Öneriler

Uygulamaların toprak pH'sı üzerine düşürücü etkisi olmuş ve 6. dönem dışında diğer dönemlerde bentonitli kükürt daha etkili bulunmuştur. Kontrole göre aradaki fark 0.3 birime kadar düşmüştür. Aynı uygulamaların EC üzerine ise arttırıcı etkisi olmuştur. Uygulanan materyale göre değişmekle birlikte kontrole göre bu fark 1076 µs cm⁻¹ değerlerine kadar yükselmiştir. Uygulamalara

göre toprakta ölçülen pH ve EC arasında negatif korelasyon elde edilmiştir. Toprakların bitkiye yarayışlı Fe içeriği doğal olarak demir sülfat uygulamasında en yüksek düzeyde gerçekleşmiştir. Toprakların bitkiye yarayışlı Zn içeriği demir sülfat uygulamasından yüksek oranda etkilenmiştir. Yaprakların besin elementi konsantrasyonları uygulamaya bağlı olarak önemli bir değiş göstermemiştir. Kiraz ağaçları EC ve pH değişimlerine hızlı tepki veren türler arasında yer

alır. Normal şartlarda EC ve pH değerlerindeki bu değişimin bitki besin elementlerinin alımı üzerine etkisinin olması beklenmiş fakat yaprak analizleri ile bu durum ispatlanamamıştır. Bu sonuçlar üzerine deneme alanının organik madde ve kireç gibi diğer toprak özellikleri etkili olabileceği gibi uygulamaların sınırlandırılmış alanlara yapılmış olması da etkili olabilir. Özellikle deneme toprağının organik maddesi kiraz yetiştirilen alanlar dikkate alındığında nispeten yüksek (%2.1), kireç içeriğinin ise düşük olduğu (%13.2) görülmektedir. Denemenin yapıldığı şartlarda toprakların pH değerinin düşürülmesinde ağaçların beslenme durumu ve meyve kalitesi dikkate alındığında kiraz yetiştiriciliğinde kullanmak üzere herhangi bir ürün önerilmemiştir. Deneme farklı toprak şartlarında aynı metotla ya da taç iz düşümünde daha geniş beslenme alanlarında tekrarlanabilir. Özellikle toprakta demir sülfat kaynaklı yüksek düzeyde bulunan Fe ve Zn'nun niçin bitkiler tarafından alınmadığı konusu daha detaylı çalışılmalıdır.

Ekler

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Yazar Katkısı: Kadir UÇGUN ve Murat CANSU çalışmayı beraber tasarlayarak denemeleri kurmuşlar ve çalışmayı birlikte yürütmüşlerdir.

Kaynaklar

- Aini, I. N., Ezrin, M. H., & Aimrun, W. (2014). Relationship between soil apparent electrical conductivity and pH value of Jawa series in oil palm plantation. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.028>
- Aizat, A. M., Roslan, M. K., Sulaiman, W. N. A., & Karam, D. S. (2014). The relationship between soil pH and selected soil properties in 48 years logged-over forest. *International Journal of Environmental Sciences*, 4(6), 1129–1140. <https://doi.org/10.6088/ijes.2014040600004>
- Aka, M. A. (2008). *Genç satsuma ağaçlarına uygulanan farklı seviyedeki kükürdün verim ve bazı besin elementlerinin alınımı üzerine etkisi*. Ege Üniversitesi.
- Anonim. (2006). *Fertilizing apples*. Spectrum Analytic Inc.
- Anonim. (2012). *Tree Fruit Production Guide*. PennState Extension. <https://extension.psu.edu/tree-fruit->

production-guide

- Aras, S., & Eşitken, A. (2018). Physiological responses of cherry rootstocks to short term salinity. *Erwerbs-Obstbau*, 60(2), 161–164. <https://doi.org/10.1007/s10341-017-0350-x>
- Aydemir, O., Akgül, M., Canbolat, M. Y., & Işıldar, A. A. (2005). *Toprak Bilgisi* (3. baskı). Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Eraslan, F., Arici, Ş. E., Erdal, İ., & Küçükyumuk, Z. (2016). Kiraz Anaçlarının in vitro koşullarda tuz stresine tolerans mekanizmalarının fizyolojik parametreler ve antioksidan enzim izoformları ile belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi - Journal of Agricultural Sciences*, 22, 117–128. https://doi.org/10.1501/Tarimbil_0000001374
- Erturk, U. S., Sivritepe, N., Yerlikaya, C., Bor, M., Özdemir, F., & Turkan, I. (2007). Responses of the cherry rootstock to salinity in vitro. *Biologia Plantarum*, 51, 597–600. <https://doi.org/10.1007/s10535-007-0132-7>
- Fallahi, E., Fallahi, B., Peryea, F. J., Neilsen, G. H., & Neilsen, D. (2010). Effects of mineral nutrition on fruit quality and nutritional disorders in apples. *Acta Horticulturae*, 868, 49–59. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2010.868.3>
- Güçdemir, I. H. (2006). *Türkiye gübre ve gübreleme rehberi*. Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları.
- Güneri, M. (2007). *Alkali topraklarda farklı gübreleme uygulamalarının bazı turuncgil türlerinde gelişme, verim ve kalite özelliklerine etkileri üzerinde araştırmalar (Doktora Tezi)*. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, izmir.
- Güneri, M., Mısırlı, A., Yokaş, İ., & Yağmur, B. (2012). Valensiya portakal çeşidinde kükürt, jips, amonyum sülfat ve sitrik asit uygulamalarının bitki besin elementleri içeriklerine etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49(1), 83–92.
- Hoying, S., Fargione, M., & Iungerman, K. (2004). Diagnosing apple tree nutritional status: leaf analysis interpretation and deficiency symptoms. *New York Fruit Quarterly*, 12(1), 16–19.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: A comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541–549. <https://doi.org/10.1002/jpln.200420516>
- Jackson, M. L. (2005). *Soil Chemical Analysis - Advanced Course* (Second Edi). UW-Madison Libraries Parallel Press.
- Kacar, B. (2012). *Toprak Analizleri* (3. baskı). Nobel Akademik Yayıncılık.
- Karaçalı, İ. (1993). *Bahçe ürünlerinin muhafaza ve pazarlanması*. Ege Üniversitesi Basım Evi.
- Kaymak, M. R. (2011). *Kükürt'ün Toprak ve Bitki Besleme Yönünden Önemi (Yüksek Lisans Tezi)*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Kotuby-amacher, J., Koenig, R., & Kitchen, B. (2000). Salinity and Plant Tolerance. In *Utah State University Electronic Publishing*.
- Lacerda, C. F. D., Ferreira, J. F. D. S., Suarez, D. L., Freitas, E. D., Liu, X., & Ribeiro, A. D. A. (2018). Evidence of nitrogen and potassium losses in soil columns cultivated with maize under salt stress. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 22(8),

- 553–557. <https://doi.org/10.1590/1807-1929/agriambi.v22n8p553-557>
- Lindsay, W. L., & Norvell, W. A. (1978). Development of a DTPA soil test for zinc, iron, manganese, and copper. *Soil Science Society of America Journal*, 42(3), 421–428. <https://doi.org/10.2136/sssaj1978.03615995004200030009x>
- Longstroth, M. (2012). Lowering the Soil pH with Sulfur. *MSU Extension*, 4–5. http://blueberries.msu.edu/uploads/files/Lowering_Soil_pH_with_Sulfur.pdf
- Loupassaki, M. H., Chartzoulakis, K. S., Digalaki, N. B., & Androulakis, I. I. (2002). Effects of salt stress on concentration of nitrogen, phosphorus, potassium, calcium, magnesium, and sodium in leaves, shoots, and roots of six olive cultivars. *Journal of Plant Nutrition*, 25(11), 2457–2482. <https://doi.org/10.1081/PLN-120014707>
- Manitoba. (2013). *Effects of manure and fertilizer on soil fertility and soil quality*. Government Canada. <http://www.gov.mb.ca/agriculture/environment/nutrient-management/pubs/effects-of-manure-fertilizer-on-soil-fertility-quality.pdf>
- McCauley, A., Jones, C., & Jacobsen, J. (2009). Soil pH and organic matter. *Nutrient Management Module No. 8*, 1–12. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.566.6336&rep=rep1&type=pdf>
- Murovhi, N. R. (2013). Effect of different rates of sulphur fertilization on fruit yield and leaf mineral composition of “Valencia” oranges in the subtropical environment of South Africa. *Acta Horticulturae*, 1007, 303–310. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1007.33>
- Neina, D. (2019). The Role of soil pH in plant nutrition and soil remediation. *Applied and Environmental Soil Science*, 2019(3), 1–9. <https://doi.org/10.1155/2019/5794869>
- Ribeiro, A. D. A., Lacerda, C. F., Rocha Neves, A. L., Sousa, C. H. C. D., Braz, R. D. S., Oliveira, A. C. D., Pereira, J. M. G., & Ferreira, J. F. D. S. (2021). Uses and losses of nitrogen by maize and cotton plants under salt stress. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 67(8), 1119–1133. <https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1779228>
- Ryan, J., Estafan, G., & Rashid, A. (2001). *Soil and Plant Analysis Laboratory Manual* (Second). ICARDA.
- Sanz, M., Pascual, J., & Machín, J. (1997). Prognosis and correction of iron chlorosis in peach trees: Influence on fruit quality. *Journal of Plant Nutrition*, 20(11), 1567–1572. <https://doi.org/10.1080/01904169709365357>
- Smith, J. L., & Doran, J. W. (1997). Measurement and use of pH and electrical conductivity for soil quality analysis. *Methods for Assessing Soil Quality*, 49, 169–185.
- Soliman, M. F., Kostandi, S. F., & Beusichem, M. L. van. (1992). Influence of sulfur and nitrogen fertilizer on the uptake of iron, manganese, and zinc by corn plants grown in calcareous soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 23(11–12), 1289–1300. <https://doi.org/10.1080/0010362920936866>
- Tisdale, S. L., & Nelson, W. L. (1975). *Soil Fertility and Fertilizers* (Third Edit). Macmillan Publishing Co., Inc.
- Uçgun, K. (2019). Effects of nitrogen and potassium fertilization on nutrient content and quality attributes of sweet cherry fruits. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47(1), 114–118. <https://doi.org/10.15835/nbha47111225>
- Uçgun, K., Ferreira, J. F. D. S., Liu, X., Filho, J. B. D. S., Suarez, D. L., Lacerda, C. F. D., & Sandhu, D. (2020). Germination and growth of spinach under potassium deficiency and irrigation with high-salinity water. *Plants*, 9(12), 1–19. <https://doi.org/10.3390/plants9121739>
- Uçgun, K., Kelebek, C., Cansu, M., Altındal, M., & Yalçın, B. (2019). Toprak pH’sını etkileyen bazı materyallerin hububat tarımında kullanımı. *Toprak Su Dergisi, Özel Sayı*, 94–100. <https://doi.org/10.21657/topraksu.655284>
- Vossen, P. (2006). Changing pH in Soil. *University of California Cooperative Extension*, 11, 1–2. <http://vric.ucdavis.edu/pdf/Soil/ChangingpHinSoil.pdf>

HARRAN TARIM ve GIDA BİLİMLERİ DERGİSİ

YAZIM KURALLARI

1. Makale, **Microsoft Word programında, Calibri** yazı karakterinde, **1.15 satır aralığında, 12 punto** düz metin ve tek sütun olarak yazılmalıdır.
2. Kenar boşlukları; **sol, sağ, alt ve üst- 3 cm** bırakılarak, her satıra ardışık olarak **satır numarası** verilerek hazırlanmalıdır.
3. Yazar(lar) makalenin ne türde bir yazı (**Araştırma makalesi, derleme, teknik not vb.**) olduğunu belirtmelidir.
4. **Türkçe başlık 14 punto (koyu ve ortalı)** küçük harflerle (Başlığın sadece ilk kelimesinin baş harfi büyük) ve düz yazılmalıdır. **İngilizce başlık 12 punto** ve ortalı yazılmalıdır.
5. Yazar isimleri **Adı SOYADI** kuralına göre Türkçe başlık sonrası **12 punto (koyu, ortalı ve düz)** ve bir boşluk bırakılarak yazılmalı, yazar isimlerinin sonuna adres için üst simge olarak rakam, sorumlu yazarı belirtmek için ise * simgesi verilmelidir. **Adres satırı** yazar isimleri sonrasında 1 boşluk bırakılarak **10 punto (normal, düz ve ortalı)** yazılmalıdır.
6. Adres satırından sonra 1 boşluk bırakılarak yazarların ORCID numaraları yazılmalıdır. ORCID satırının altına, sorumlu yazar e-posta adresi belirtilmelidir.
7. Metin genel olarak;
 - **Öz,**
 - **Abstract,**
 - **Giriş,**
 - **Materyal ve Metot,**
 - **Araştırma Bulguları ve Tartışma,**
 - **Sonuçlar,**
 - **Ekler**
 - **Kaynaklar** şeklinde olmalıdır.
8. Ana başlıkların yazımında koyu olarak kelimelerin sadece baş harfleri büyük yazılmalıdır. İkincil ve üçüncül başlıklarda sadece ilk kelimenin baş harfi büyük, diğer kelimeler küçük, koyu değil ve italik yazılmalıdır. Metin ana başlıkları, metin başlangıcı ve sonunda olmak üzere 1' er boşluk bırakılmalıdır. Alt başlıklardan önce 1 boşluk bırakılmalı, ancak, sonrasında boşluk bırakılmamalıdır. Tüm başlıklar girinti verilmeden sola yaslı olarak yazılmalıdır.
9. **Metin içerisinde kaynak gösterimi (Yazar, yıl)** esasına göre yapılmalıdır. Metin içerisinde iki yazarlı bir kaynağın gösteriminde, metin Türkçe ise **(ilk yazar soyadı ve ikinci yazar soyadı, yıl)** kuralı uygulanmalıdır. İkiiden fazla yazarın bulunduğu kaynakların gösteriminde **(ilk yazarın soyadı ve ark., yıl)** kuralı uygulanmalıdır.
Örneğin: (Mamay, 2020), (İkinci ve Bolat, 2018); (Söylemez ve ark., 2019),
10. Makale İngilizce olarak yazılacaksa **(ilk yazar and ikinci yazar, yıl)** ve **(ilk yazarın soyadı et al., yıl)** kuralı uygulanmalıdır.
Örneğin: (Söylemez, 2018), (Bolat and Mamay, 2015), (Mamay et al., 2010).
11. Metin içerisinde birden fazla kaynağa aynı anda atıf yapılacak ise; kaynaklar yayımlandıkları yıl dikkate alınarak kronolojik olarak sıralanmalıdır.
12. **ÖZ (ABSTRACT):** Başlık sola yaslı olmalı, 10 punto, koyu, paragraf başında girinti verilmemelidir. Türkçe ve İngilizce metin 300 kelimayı aşmayacak şekilde, 10 punto ve 1 satır aralığında yazılmalıdır. Öz ile Anahtar Kelimeler ve Abstract ile Key Words arasında tek

satır boşluk (10 punto, düz) bırakılarak metnin hemen altında en fazla 5 adet **Anahtar Kelimeler (Key Words)** yazılmalıdır. Key Words ile ana metin (Giriş) arasında iki satır boşluk bırakılmalıdır.

13. Makalelerde fotoğraf, grafik, çizim vb. “**Şekil**” olarak, Tablolar ise “**Çizelge**” olarak ifade edilmelidir.
14. Çizelge ve Şekiller ardışık olarak numaralandırılmalıdır (Şekil 1. veya Çizelge 1.). “Şekil” ve “Çizelge” içerikleri 1 satır aralıklı ve **10 punto** olarak hazırlanmalıdır.
15. Çizelge başlıkları çizelgenin üstünde, şekil başlıkları ise şekillerin altında ilk harf büyük olacak şekilde 1 satır aralıklı **10 punto** olarak yazılmalıdır.
16. **Türkçe yazılmış makalelerde Şekil ve Çizelge başlıklarının İngilizceleri, Türkçe başlığın hemen altında *italik* olarak yazılmalıdır.** (Makale İngilizce olarak yazılmışsa, Şekil ve Çizelge başlıklarının Türkçe karşılıkları yazılmayacaktır)

Şekil 1. Araştırma bahçesinde tespit edilen ortalama sıcaklık, ortalama nispi nem ve aylık yağış miktarı ortalaması değerleri (2007-2011 yılları ortalaması)

Figure 1. The average temperature, average relative humidity and average monthly rainfall data detected in the research garden (average of the years 2007-2011)

Çizelge 2. Şeftali çeşitlerinin 2007 - 2011 yılları arasındaki fenolojik gözlem sonuçları

Table 2. Phenological observation results of peach cultivars for between 2007 and 2011

Türkçe yazılmış makalelerde Çizelge ile Şekillerin içerisinde bulunan parametrelerin İngilizce karşılıkları bu parametrelerin hemen altına ***italik*** olarak yazılmalıdır. (Makale İngilizce olarak yazılmışsa, Şekil ve Çizelgelerin içerisinde belirtilen parametrelerin Türkçe karşılıkları yazılmayacaktır.)

Çizelge 3. Denemede yer alan şeftali çeşitlerinin bazı pomolojik özellikleri

Table 3. Some pomological properties of peach varieties

Çeşitler Varieties	Meyve ağırlığı(g) Fruit weight (g)	Meyve eni (mm) Fruit width (mm)	Meyve boyu(mm) Fruit length (mm)	Çekirdek ağırlığı (g) Kernel weight (g)
Cardinal	78.19 f	50.73 d	48.48 c	5.06 d
Cresthaven	129.58 b	61.69 bc	59.56 b	8.31 bc

17. Makale metni ve Çizelge-Şekil içerisinde bildirilen ondalık rakamlar, **nokta** ile ayrılmalıdır. (123.87; 0.987 vb.).
18. Çizelge-Şekillerden önce ve sonra **bir satır boşluk** bırakılmalıdır.
19. Makale yazımında “**Uluslararası Birim Sistemi**” (SI)’ye uyulmalıdır. Buna göre; g/l yerine **g l⁻¹**, mg/l yerine **mg l⁻¹** ya da **ppm** kullanılmalıdır. Yüzde ile belirtilen ifadeler açıklayıcı olmalıdır. Örneğin; %3 yerine **%3 (w/v)**, **%3 (v/v)**, **%3 (w/w)** şeklinde belirtilmelidir.
20. **Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi Kaynaklar listesinin bildirişinde APA Formatını kullanmaktadır.** Buna göre **kaynaklar listesi** aşağıdaki kurallar çerçevesinde hazırlanmalıdır.

1. DERGİ YAYINLARINA ATIF VERME

1.1. Tek yazarlı makale

Mamay, M. (2015). Nar yaprakbiti [*Aphis punicae* Passerini (Hemiptera: Aphididae)]’nin Şanlıurfa ili nar bahçelerindeki bulaşıklık haritası. *Türkiye Entomoloji Bülteni*, 5(3), 159-166.

1.2. İki yazarlı makale

Soylomez, S., & Pakyurek, A. Y. (2017). Responses of rootstocks to nutrient induced high EC levels on yield and fruit quality of grafted tomato cultivars in greenhouse conditions. *Applied ecology and environmental research*, 15(3), 759-770. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1503_759770

1.3. İkidenden fazla yazarlı makale

Mamay, M., Ünlü, L., Yanık, E., Doğramacı, M., & İkinci, A. (2016). Efficacy of mating disruption technique against carob moth, *Apomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) in pomegranate orchards in Southeast Turkey (Şanlıurfa). *International Journal of Pest Management*, 62(4), 295-299.

İkinci, A., Mamay, M., Unlu, L., Bolat, I., & Ercisli, S. (2014). Determination of heat requirements and effective heat summations of some pomegranate cultivars grown in Southern Anatolia. *Erwerbs-Obstbau*, 56(4), 131-138. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10341-014-0220-8>

2. KİTAPLARI KAYNAK GÖSTERME

2.1. Kaynak kitap ise,

Mohsenin, N. N. (1970). *Physical Properties of Plant and Animal Materials*. New York: Gordon and Breach Science Publishers.

2.2. Kaynak kitaptan bir bölüm ise,

Author, A. A. (Year). Chapter title. In E. E. Editor (Ed.), *Title of book: And subtitle* (pp. pages). Place: Publisher.

2.3. Editörlü kitap

Yeşilyaprak, B. (Ed.). (2003). *Gelişim ve öğrenme psikolojisi*. Ankara: Pegem Yayıncılık.

2.4. Yazarı bilinmeyen kaynakları veya internet kaynaklarını kaynak olarak gösterme;

Anonymous (2005). Tereyağı, diğer süt yağı esaslı sürülebilir ürünler ve sadeyağ tebliği. Türk Gıda Kodeksi, Tebliğ No: 2005/19, Ankara.

FAO, (2015). Statistical data of FAO. Retrieved from: <http://faostat.fao.org/site/567/default.asp>.

3. YÜKSEK LİSANS ve DOKTORA TEZLERİNE ATIF VERME

Doktora ya da yüksek lisans tezlerine elektronik veri tabanlarından, kurumsal arşivlerden ve kişisel web sayfalarından erişilebilir. Eğer bir teze ProQuest doktora ve yüksek lisans tezleri veri tabanından ya da diğer bir kaynaktan erişildiyse, atıfta bu bilgi verilmelidir. Bir veri tabanı servisinde mevcut olan bir doktora ya da yüksek lisans tezi için aşağıdaki kaynak gösterme biçimi kullanılır:

3.1. Yayınlanmamış tez

Mamay, M. (2013). *Determination of population development and infestation ratio of carob moth [Apomyelois ceratoniae Zell. (Lepidoptera:Pyralidae) in pomegranate orchards in Sanliurfa province and using mating disruption technique for its control* (Yayımlanmamış doktora tezi). Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

Söylemez, S. (2014). *Effects of nutrient induced salinity levels and rootstocks on plant growing, yield and some fruit quality features at soilless grown grafted tomatoes* (Yayımlanmamış doktora tezi). Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

3.2. Yayınlanmış tez

May, B. (2007). *A survey of radial velocities in the zodiacal dust cloud*. Bristol, UK: Canopus Publishing.

4. SEMPOZYUM VE TOPLANTI BİLDİRİLERİNE ATIF VERME

Mamay, M. (2017). Population density of overwintering larvae of Carob Moth [*Apomyelois* (= *Ectomyelois*) *ceratoniae* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae)] in pomegranate orchards in Southeastern Anatolia. SEAB 2017. *Proceedings of the 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity*, (pp. 235), 05-08 July 2017, Minsk, Belarus.

İkinci, A. & Mamay, M. (2017). Effects of fruit thinning on morphological, physico-chemical properties, bioactive compounds, antioxidant activity and pest & disease control in pomegranate fruit (*Punica granatum* L.) *International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies*, (pp. 642), 15-17 May 2017, Cappadocia, Turkey.

Sönmez, C., Mamay, M. & Söylemez, S. (2019). Determination of the effect of different hydroponic culture and different NH₄:NO₃ ratio on the density of aphid [*Aphis* spp. (Hemiptera: Aphididae)] population in greenhouse lettuce. *1st International Gobeklitepe Agriculture Congress (IGAC-2019)*, (pp. 599-604), 25-27 November, Şanlıurfa, Turkey.

Not: Yukarıda yer alan kaynak gösterimlerde bulamadığınız farklı materyal veya konu başlıklarındaki kaynak bildirişleri için internetteki APA Kaynak Gösterimi ile ilgili web sayfalarından ya da aşağıdaki linkteki bilgilerden yararlanabilirsiniz.

https://libguides.library.usyd.edu.au/ld.php?content_id=47913440

Şencan, İ., ve Doğan, G. (2017). Bilimsel yayınlarda kaynak gösterme, tablo ve şekil oluşturma rehberi: APA 6 Kuralları. *Türk Kütüphaneciliği Dergisi*, Ankara.

https://www.tk.org.tr/APA/apa_2.pdf

HARRAN TARIM ve GIDA BİLİMLERİ DERGİSİ

YAZAR REHBERİ

1. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi'ne gönderilen makaleler Dergi Yayın Kurulu tarafından belirlenen yazım kurallarına göre yazılmalıdır.
2. Makaleler, **Dergipark Sistemi üzerinden online** olarak yüklenmelidir.
3. Tüm yazarlar tarafından imzalanan **Telif Hakkı Devir Sözleşmesi** ve **Makale Kontrol Listesi** (sorumlu yazar tarafından imzalanacak) makale ile birlikte sisteme yüklenmelidir.
4. **iThenticate Programı Benzerlik Raporu** (**%20**'yi geçmemelidir) ve gerekli ise **Etik Kurul Kararı** makale ile birlikte sisteme yüklenmelidir.
5. Hazırlanacak olan makale metni genel olarak;

- Öz,
- Abstract,
- Giriş,
- Materyal ve Metot,
- Araştırma Bulguları ve Tartışma,
- Sonuçlar,
- Ekler,
- Beyanlar
 - Çıkar Çatışması
 - Yazar Katkısı
- Kaynaklar bölümlerinden oluşmalıdır.

6. **Başlık:** Kısa ve açıklayıcı olmalı, **Calibri** yazı karakterinde, **14 punto, koyu**, düz, ortalanarak ve küçük harflerle (Başlığın sadece ilk kelimesinin baş harfi büyük) yazılmalıdır. Başlık tercihen 15 kelimeyi geçmemelidir. İngilizce başlık Türkçe başlığı tam olarak karşılamalı, 12 punto ve koyu yazılmalıdır.

7. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi'ne yayınlanması için makalenin ilk gönderiminde **yazar isimleri, kurum isimleri, adresleri, ORCID numaraları ve e-posta bilgileri yer almamalıdır.**

8. Makalenin hakem değerlendirmesi tamamlandıktan ve makale Yayın Kurulu tarafından kabul edildikten sonra, 7. maddede yer alan yazar isimleri ve diğer bilgiler, hakem önerilerine göre yeniden düzenlenmiş olan makale sayfası üzerine yazıldıktan sonra, Dergi web sayfasında yer alan düzenlenmiş makaleyi gönder sayfasından Dergi sistemine yüklenmelidir. **Kontrol edilmiş veya düzeltilmiş olan makale, yeni bir makale gibi Dergi web sayfasından yüklenmemelidir.**

9. Yazar isimleri **Adı SOYADI** kuralına göre Türkçe başlık sonrası **12 punto (koyu, ortalı ve düz)** ve bir boşluk bırakılarak yazılmalı, yazar isimlerinin sonuna adres için üst simge olarak rakam, sorumlu yazarı belirtmek için ise * simgesi verilmelidir. Adres satırı yazar isimleri sonrasında 1 boşluk bırakılarak **10 punto (normal, düz ve ortalı)** yazılmalıdır. Adres satırından sonra 1 boşluk

bırakılarak yazarların ORCID numaraları yazılmalıdır. ORCID satırının altına sorumlu yazar e-posta adresi belirtilmelidir.

10. **ÖZ:** Çalışmanın yürütüldüğü yer ve zamanını, amacını, yöntemini ve sonuçları içermelidir. Sola yaslı, 10 punto, koyu, paragraf başında girinti verilmemelidir. Türkçe ve İngilizce metin 300 kelimeyi aşmayacak şekilde 10 punto ve 1 satır aralığında yazılmalıdır. Öz ile Anahtar Kelimeler ve Abstract ile Key Words arasında tek satır boşluk (10 punto, düz) bırakılarak, metnin hemen altında en fazla 5 adet **Anahtar Kelimeler (Key Words)** yazılmalıdır. Key Words ile ana metin (Giriş) arasında iki satır boşluk bırakılmalıdır.

11. **Giriş:** Bu bölümde; çalışma konusu, gerekçesi, konu ile doğrudan ilgili önceki çalışmalar ve çalışmanın amacı verilir. Bu bölümde; çalışmanın konusu özetlenmeli, konu hakkındaki mevcut bilgi doğrudan ilişkili önceki çalışmalarla değerlendirilmeli ve bilgi üretimine ihtiyaç duyulan hususlar vurgulanıp çalışma ile ilişkilendirilmelidir. Son olarak çalışmanın amacı net ve açık bir şekilde ifade edilmelidir.

12. **Materyal ve Metot:** Bu bölümde; çalışmada kullanılan canlı ve cansız materyaller, uygulanan yöntemler, değerlendirilen ölçütler, uygulanan deneme desenleri veya örnekleme yöntemleri ile istatistiksel analizler gerektiğinde kaynaklarla da desteklenerek, açık ve net biçimde anlatılmalıdır. Yeni veya değiştirilmiş yöntemler, aynı konuda çalışanlara araştırmayı tekrarlama olanağı verecek nitelikte açıklanmalıdır. Bu amaçla gerektiğinde alt başlık kullanılmalıdır.

13. **Araştırma Bulguları ve Tartışma:** Çalışmada elde edilen bulgular şekil ve çizelgeler yardımıyla ve istatistiksel analizlere dayalı olarak açık ve net bir biçimde verilmelidir. İstatistikî olarak önemli bulunan faktörler, uygulanan istatistik analiz tekniğine uygun karşılaştırma yöntemi ile yorumlanarak ilgili istatistikler üzerinde harflendirme yapılmalıdır. Aynı veriler hem grafik hem de çizelge ile verilmemeli, konuya en uygun araç seçilmeli, anlatımda tekrarlayan cümle ve ifadelerden kaçınılmalıdır. Tartışma kısmında, uyum ve zıtlık açısından önceki çalışmalarla karşılaştırılmalı, doldurduğu bilgi açığı vurgulanmalı, önceki bölümlerdeki ifadelerin olduğu gibi tekrarından kaçınılmalıdır.

14. **Sonuçlar:** Bu bölümde; elde edilen nihai sonuçlar ve varsa öneriler, bilime ve uygulamaya katkısıyla birlikte kısa ve öz olarak verilmelidir.

15. **Ekler:** Çalışmayı destekleyen kurum ve kuruluşlar ile çalışmaya katkı sağlayanlar bu kısımda ifade edilmelidir. Ayrıca, makalenin lisansüstü tezlerden üretilip üretilmediği, abstract olarak kongre ve sempozyumlarda sunulup sunulmadığı da Ekler bölümünde belirtilmelidir.

16. **Beyanlar (Declarations)**

Çıkar Çatışması: Kişiler makalelerin etik ilkeler çerçevesinde değerlendirilebilmesi ve bağımsız bir süreç yürütülebilmesi için olası çıkar çatışmaları ile ilgili olarak yayın kurulunu bilgilendirmelidir. Ekonomik veya kişisel fayda sağlanan durumlar çıkar çatışmasını meydana getirir. Bilimsel sürecin ve yayınlanan makalelerin güvenilirliği; bilimsel çalışmanın planlanması, uygulanması, yazılması, değerlendirilmesi, düzenlenmesi ve yayınlanması sırasında çıkar çatışmalarının objektif bir şekilde ele alınmasıyla doğrudan ilişkilidir. Makale ile ilgili çıkar çatışması söz konusu değilse, “makale yazarları, aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder” ifadesi yazılmalıdır.

Yazar Katkısı: Çalışmanın tasarlanması, planlanması, kurulması, yürütülmesi, verilerin analizi ve

makalenin yazılmasında içeriğe bilimsel açıdan katkı sağlayan her bir yazarın makaleye katkı şekli belirtilmelidir. Yazar katkıları, örnek olarak “**MM çalışmayı tasarlayarak denemeleri kurmuş, MM ve AA çalışmayı yürütmüş, BB verileri analiz etmiş, MM, AA ve BB makaleyi yazmıştır**” şeklinde ifade edilebilir.

17. **Kaynaklar:** Makalede atıfta bulunulan literatürlere Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi Yayın Kurulu tarafından belirlenen **yazım kurallarına göre** yazılmalıdır.

Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi **Yazım Kuralları** için ...

18. **Kısaltmalar ve Semboller:** Makale başlığı ve başlıklarda kısaltma kullanılmamalıdır. Gerekli olan kısaltmalar kavramların ilk geçtiği yerde parantez içinde verilmelidir. Kısaltmalarda ve sembollerin kullanımında ilgili alanın evrensel kurallarına uyulması zorunludur.

19. **Formüller:** Makalelerde formüller “Eşitlik” olarak adlandırılmalı ve italik olarak yazılmalıdır. Makalede birden fazla eşitlik varsa numaralandırılmalı, numara formülün yanında sağa dayalı olarak parantez içinde gösterilmelidir.

20. Makaleye ardışık olarak **satır ve sayfa numarası** verilmelidir.

21. **Calibri** karakterinde, **12 punto** ve **1.15 satır** aralıklı yazılan makale **20 sayfa**yı geçmemelidir.

22. Yayınlanmasına karar verilen eserler, sadece şekilsel olarak, yukarıda yer alan bilgiler doğrultusunda yeniden düzenlenmeli, yazar(lar)ca herhangi bir eklenti ya da çıkartma yapılmamalıdır.

23. Makale içerisinde, dergi basıldığı haliyle görünen hataların sorumluluğu yazarlara aittir. Yayın Kurulundan kaynaklanan basım hataları için ise düzeltme yayınlanabilir.

24. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi; yazarlardan makale gönderimi, değerlendirilmesi ve basım aşamalarında herhangi bir basım ücreti almamaktadır.

MANUSCRIPT WRITING RULES

1. The manuscript should be written in Microsoft Word program, in Calibri font, **1.15** line spacing, **12** pt. plain text and a single column.
2. Margins; **Left, right, bottom and top 3 cm** should be left, and each row should be prepared consecutively by giving the line number.
3. Author (s) should indicate the type of manuscript (**Research Manuscript, Review, Technical Note** etc.).
4. **The English title should be written in 14 pt (bold and centered)** lowercase letters (only the first word of the title is capitalized) and in plain text. The Turkish title should be written in 12 font size and centered.
5. Author names should be written in **12 pt. (Bold, centered and plain)** and a space after the title according to the Name SURNAME rule, followed by a number as superscript for the address and a * symbol to indicate the corresponding author. Address line should be written after the author names, leaving **1 space and 10 pt (normal, straight and centered)**.
6. Authors' ORCID numbers should be written, leaving 1 space after the address line. Under the ORCID line, the responsible author e-mail address must be specified.
7. The text should generally be in the following form;
 - **Abstract**
 - **Introduction**
 - **Material and Method,**
 - **Results and Discussion,**
 - **Conclusions**
 - **Acknowledgement**
 - **References**
8. In the writing of main titles, only the initials of the words should be capitalized in bold. In secondary and tertiary titles, only the first letter of the first word should be capitalized, other words should be in small, not bold and italic. There should be 1 space each, including the main headings of the text, the beginning and the end of the text. 1 space should be left before subtitles, but no spaces should be left after them. All titles should be left justified without indenting.
9. Reference should be cited **in the text based on (Author, year) rule**. In the presentation of a reference with two authors in the text, the rule (**first author's surname and second author's surname, year**) should be applied. In the display of sources with more than two authors (**first author's surname et al., year**) rule must be applied.

For example; (Bilgili, 2020), (Bilgili and vanEs, 2018); (Bilgili et al., 2019).

10. If more than one reference will be cited at the same time in the text; Referencens should be ordered chronologically, considering the year they were published.

11. **ABSTRACT:** Title should be left justified, 10 pt, bold, not indented at the beginning of the paragraph. Turkish and English texts should be written in 10 font size and 1 line spacing, not exceeding 300 words. **A maximum of 5 Key Words** should be written just below the text, leaving a single line space (10 pt., Plain) between Abstract and Keywords, and Öz (Turkish Abstract) and Key Words. Two lines of space should be left between Key Words and the main text.

12. Photographs, graphics, drawings, etc. should be expressed as "Figure" and Tables as "Tables".

13. Tables and Figures should be numbered consecutively (Figure 1. or Table 1.). Contents of "Figure" and "Table" should be prepared with 1 line spacing and 10 pt.

14. Table titles should be written above the table, and figure titles should be written below the figures in 10 pt, 1 line spacing with the first letter capital.

15. Figure and Table titles should be written in italics;

Figure 1. The average temperature, average relative humidity and average monthly rainfall data detected in the research garden (average of the years 2007-2011) Table 2. Phenological observation results of peach cultivars for between 2007 and 2011

16. Decimal numbers in the manuscript text and Table-Figure should be separated by **a period**. (123.87; 0.987 etc.).

17. One blank line should be left before and after the table-figures.

18. Manuscript writing should comply with the "International Unit System" (SI). According to this; Use g l-1 instead of g / l, and mg l-1 or ppm instead of mg / l. Percentages should be descriptive. For example; It should be specified as 3% (w / v), 3% (v / v), 3% (w / w) instead of 3%.

19. Harran Journal of Agriculture and Food Sciences uses **APA Style** in the submission of the sources list. Accordingly, the list of references should be prepared in accordance with the following rules.

19.1. **Citation to journal publications;**

19.1.1. Single author manuscripts;

Mamay, M. (2015). Infestation map of pomegranate aphid [*Aphis punicae* Passerini (Hemiptera: Aphididae)] in Şanlıurfa province pomegranate orchards. Turkey Entomology Bulletin, 5(3), 159-166.

19.1.2. Two-author manuscripts;

Soylemez, S., & Pakyurek, A. Y. (2017). Responses of rootstocks to nutrient induced high EC levels on yield and fruit quality of grafted tomato cultivars in greenhouse conditions. Applied Ecology and Environmental Research, 15(3), 759-770. DOI: http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1503_759770

19.1.3. Manuscripts with more than two authors;

İkinci, A., Mamay, M., Unlu, L., Bolat, I., & Ercisli, S. (2014). Determination of heat requirements and effective heat summations of some pomegranate cultivars grown in Southern Anatolia. Erwerbs-Obstbau, 56(4), 131-138. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10341-014-0220-8>.

19.2. Referencing Books;

19.2.1. If the source is a book;

Mohsenin, N. N. (1970). Physical Properties of Plant and Animal Materials. New York: Gordon and Breach Science Publishers.

19.2.2. If it is a chapter from the source book;

Author, A. A. (Year). Chapter title. In E. E. Editor (Ed.), Title of book: And subtitle (pp. pages). Place: Publisher.

19.2.3. Edited book;

Yeşilyaprak, B. (Ed.). (2003). Development and learning psychology. Ankara: Pegema Publishing.

19.3. Citing sources of unknown author or internet sources;

Anonymous (2005). Butter, other milk fat-based spreads and plain butter notification. Turkish Food Codex, Communiqué No: 2005/19, Ankara.

FAO, (2015). Statistical data of FAO. Retrieved from: <http://faostat.fao.org/site/567/default.asp>.

19.4. Citing Master's and Doctoral theses;

Doctorate or master theses can be accessed from electronic databases, corporate archives and personal web pages. If a dissertation is accessed from the ProQuest database of doctoral and master's theses or any other source, this information should be provided in the reference. For a doctorate or master thesis available in a database service, the following citation format is used;

Unpublished thesis;

Mamay, M. (2013). *Determination of population development and infestation ratio of carob moth [Apomyelois ceratoniae Zell. (Lepidoptera:Pyralidae)] in pomegranate orchards in Sanliurfa province and using mating disruption*

technique for its control (Unpublished doctoral dissertation). Harran University, Graduate School, Şanlıurfa.

Söylemez, S. (2014). *Effects of nutrient induced salinity levels and rootstocks on plant growing, yield and some fruit quality features at soilless grown grafted tomatoes* (Unpublished doctoral dissertation). Harran University, Graduate School, Şanlıurfa.

Published thesis; May, B. (2007). A survey of radial velocities in the zodiacal dust cloud. Bristol, UK: Canopus Publishing.

19.5. Citing Symposium and Meeting Papers

Mamay, M. (2017). Population density of overwintering larvae of Carob Moth [*Apomyelois* (= *Ectomyelois*) *ceratoniae* Zell. (Lepidoptera: Pyralidae)] in pomegranate orchards in Southeastern Anatolia. SEAB 2017. *Proceedings of the 3rd International Symposium on EuroAsian Biodiversity*, (pp. 235), 05-08 July 2017, Minsk, Belarus.

İkinci, A. & Mamay, M. (2017). Effects of fruit thinning on morphological, physico-chemical properties, bioactive compounds, antioxidant activity and pest & disease control in pomegranate fruit (*Punica granatum* L.) *International Conference on Agriculture, Forest, Food Sciences and Technologies*, (pp. 642), 15-17 May 2017, Cappadocia, Turkey.

Sönmez, C., Mamay, M. & Söylemez, S. (2019). Determination of the effect of different hydroponic culture and different NH₄:NO₃ ratio on the density of aphid [*Aphis* spp. (Hemiptera: Aphididae)] population in greenhouse lettuce. *1st International Gobeklitepe Agriculture Congress (IGAC-2019)*, (pp. 599-604), 25-27 November, Şanlıurfa, Turkey.

Note: You can use the web pages related to **APA Referencing Style** on the internet.

TELİF HAKKI DEVİR SÖZLEŞMESİ

Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi Yayın Kurulu Başkanlığına

Eserin Adı:

Yazar(lar);

- Sunulan makalenin yazar(lar)ın orijinal çalışması olduğunu;
- Tüm yazarların bu çalışmaya bireysel olarak katılmış olduklarını ve bu çalışma için her türlü sorumluluğu aldıklarını;
- Tüm yazarların sunulan makalenin son halini gördüklerini ve onayladıklarını;
- Makalenin başka bir yerde özet dışında basılmadığını veya basılmak için sunulmadığını;
- Makalede bulunan metnin, şekillerin ve dokümanların başkalarına ait Telif Haklarını ihlal etmediğini taahhüt ederler.

Bununla birlikte, yazarların veya varsa yazarların işverenin;

- Patent hakları;
- Yazar(lar)ın kitaplarında veya diğer çalışmalarında makalenin tümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı;
- Makaleyi satmamak koşuluyla kendi amaçları için çoğaltma hakkı gibi fikri mülkiyet hakları saklıdır.
- Makalenin herhangi bir bölümünün başka bir yayında kullanılmasına Harran Tarım ve Bilimleri Dergisi yayımcı kuruluş olarak belirtilmesi ve Dergiye atıfta bulunulması şartıyla izin verilir.

Ben / Biz, telif hakkı ihlali nedeniyle üçüncü şahıslarca istenecek hak talebi veya açılacak davalarda Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi Editörlerinin hiçbir sorumluluğunun olmadığını, tüm sorumluluğun yazarlara ait olduğunu, ayrıca makalede hiçbir suç unsuru veya kanuna aykırı ifade bulunmadığını, araştırma yapılırken kanuna aykırı herhangi bir malzeme ve yöntem kullanılmadığını taahhüt ederim/ederiz.

1. Yazarın Bilgileri			
Adı SOYADI			
Kurum Adresi			
ORCID Numarası		Tarih	İmza

2. Yazarın Bilgileri			
Adı SOYADI			
Kurum Adresi			
ORCID Numarası		Tarih	İmza

Telif Hakkı Devir Sözleşmesi tüm yazarlarca imzalandıktan sonra tek bir form olarak sisteme yüklenmelidir)

Lütfen arka sayfaya geçiniz.

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/harranziraat>

e-ISSN: 2587-1358