



*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)

Prof. 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

Prof. Dr. Mehmet MAMAY

Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma 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. 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

Dr. Arş. Gör. Ali SARIOĞLU

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

Dr. Arş. Gör. Sabri AKIN

Harran Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarımsal Yapılar ve Sulama 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): 4

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. Abdulkaki 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, Ecophysiological, Australia

**Dr. Muhammed Nasir ROFIQ**

Agency for The Assessment and Application of Technology (BPPT), Jakarta, Indonesia

**Mizanpaj Editörleri**

Arş. Gör. Dr. Ali SARIOĞLU

Arş. Gör. Dr. 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:** 15.12.2024

**Yılda dört kez yayınlanır**

Yayınlara erişim adresi: <http://dergipark.org.tr/harranziraat>

Yıl/year: 2024

Cilt/volume: 28

Sayı/number: 4

**Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**  
Hakemli Olarak Yayınlanmaktadır

**Bu Sayıya Katkıda Bulunan Hakemler**  
(Alfabetik Sıraya Göre Yazılmıştır)

Prof. Dr. Ahmet Erhan ÖZDEMİR-  
Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. Ahmet Ferit ATASOY  
Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Ahmet Levent İNANÇ  
Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Alper SUSURLUK  
Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Arzu Akpınar BAYİZİT  
Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Gıda Teknolojisi

Prof. Dr. Eftal DÜZYAMAN  
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. Emine ÇIKMAN  
Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Eyyüp Mennan YILDIRIM  
Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Hasan Sungur CİVELEK  
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Prof. Dr. Hilal Şahin NADEEM  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Hüseyin GENÇCELEP  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda  
Teknolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. İbrahim DUMAN  
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

Prof. Dr. İrfan ÇORUH  
Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Recep KOTAN  
Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Prof. Dr. Sadettin TURHAN  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda  
Teknolojisi Anabilim Dalı

Prof. Dr. Şükrü KURT  
Adıyaman Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Prof. Dr. Tingquan WU  
Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong Province, Çin

Doç. Dr. Derya ERBAŞ  
Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

Doç. Dr. Erçin OKSAL  
Malatya Turgut Özal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Hafiz Zia Ullah Gazali  
Oilseeds Research Institute, Faisalabad, Pakistan

Doç. Dr. Hatice PEKMEZ  
Gaziantep Üniversitesi turizm Fakültesi Gastronomi Ve Mutfak Sanatları

Doç. Dr. Hilal YILDIRIM  
Giresun Üniversitesi Espiye MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü

Doç. Dr. İlkay GÖK  
Okan Üniversitesi Sanat, Tasarım ve Mimarlık Fakültesi Binası, Gastronomi ve Mutfak  
Sanatları

Doç. Dr. M. Zeki KARİPÇİN  
Siirt Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

Doç. Dr. Mesude ÜNAL  
Kocaeli Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Doç. Dr. Nizam Mustafa NİZAMLIOĞLU  
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği  
Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Alper Kürşat DEMİRKAYA  
Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü  
Gıda Teknolojisi Programı

Dr. Öğr. Üyesi Bahadır ŞİN  
Sakarya Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Celale KIRKIN GÖZÜKIRMIZI  
İstanbul Teknik Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

Dr. Öğr. Üyesi Yahya NAS  
Şırnak Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bahçe Bitkileri Bölümü

Dr. Öğretim Üyesi Ali Demir KESKİNER  
Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü

Öğr. Gör. Dr. Mehmet Şükrü KARAKUŞ  
Harran Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü

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

Dr. Emrah ÖZÇAKAL  
Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü

Dr. İslam Emrah SÜER  
Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Diyarbakır Zirai Mücadele Araştırma Enstitüsü

İçindekiler / Contents

Araştırma Makaleleri / Research Articles

<p><b>Antagonistic potential of <i>Fusarium oxysporum</i> as an endophyte isolated from Horse-chestnut tree in the management of <i>Rhizoctonia solani</i> under <i>in-vitro</i> conditions</b> <i>Rhizoctonia solani</i>'nin mücadelesinde At Kestanesi ağacından izole edilen <i>Fusarium oxysporum</i>'un endofit olarak antagonistik potansiyelinin <i>in-vitro</i> koşullarda belirlenmesi Muhammad ARİF</p>	550-563
<p><b>The effects of different amounts of branched broomrape (<i>Phelipanche ramosa</i> (L.) Pomel) seeds on some cultivated plants</b> <i>Farklı oranlarda mavi çiçekli canavar otu (Phelipanche ramosa (L.) Pomel) tohumlarının bazı kültür bitkileri üzerindeki etkileri</i> Enes FİDAN, Reyyan YERGİN ÖZKAN, Işık TEPE</p>	564-569
<p><b>Bazı bitki uçucu yağ ve karışımlarının mandarinde <i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler 1832'nin neden olduğu kahverengi leke hastalığı üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi</b> <i>Determination of antifungal effects of some plant essential oils and their mixtures on brown spot disease caused by Alternaria alternata (Fr.) Keissler 1832 on mandarin</i> Mehmet ATAY, Meltem AVAN, Memet İNAN</p>	570-583
<p><b>Kayseri ili nohut ekim alanlarında nohut yapraksineği [<i>Liriomyza cicerina</i> Rondani (Diptera: Agromyzidae)]'nin yaygınlığı, bulaşıklık oranı ve popülasyon dalgalanması</b> <i>Prevalence, contamination rate and population fluctuation of Chickpea leaf fly [<i>Liriomyza cicerina</i> Rondani (Diptera: Agromyzidae)] in chickpea planting areas of Kayseri province</i> Ahmet ÖZKAN, Murat MUŞTU</p>	584-592
<p><b>Düşük nem koşullarına adapte yerli entomopatojen fungus izolatının <i>Tenebrio molitor</i> (Coleoptera:Tenebrionidae) üzerindeki etkinliği</b> <i>Effectiveness of native entomopathogenic fungus isolate adapted to low humidity conditions on Tenebrio molitor (Coleoptera:Tenebrionidae)</i> Mehmet Sedat SEVİNÇ, Nuran KARATAĞ, Mesut ALTINDAL</p>	593-603
<p><b>Effect of Different Growing Periods on Yield and Quality Characteristics in Artichoke (<i>Cynara cardunculus</i> var. <i>scolymus</i>) Production</b></p>	604-615



<i>Enginar (Cynara cardunculus var. scolymus) Üretiminde Farklı Yetiştirme Dönemlerinin Verim ve Kalite Özelliklerine Etkisi</i> Celil KORKMAZ, Ertan Sait KURTAR	
<b>Kimyasal gübrelerin etkinliğini artırmada rizobakteri (PGPR) ve yarasa gübresi uygulamalarının marulda (<i>Lactuca Sativa L.</i>) verim ve verim bileşenlerine etkileri</b> <i>Effects of rhizobacteria (PGPR) and bat guano applications on yield and yield components in lettuce (<i>Lactuca Sativa L.</i>) in increasing the effectiveness of chemical fertilizers</i> Yusuf ÇELİK	616-624
<b>‘Sel-42’ ve ‘Tainung’ papaya çeşitlerinin soğukta muhafazasında meyve kalite parametrelerindeki değişim üzerine 1-metilsiklopropenin (1-MCP) etkisi</b> <i>Impact of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on changes in fruit quality parameters of ‘Sel-42’ and ‘Tainung’ papaya cultivars during cold storage</i> Esma GÜNEŞ, Hatice Reyhan ÖZİYÇİ, Hamide GÜBBÜK	625-637
<b>Determination of Mardin-Kızıltepe plain groundwater level using geographic information systems and analysis of change between 1985-2019</b> <i>Mardin-Kızıltepe ovası yeraltı su seviyesinin coğrafi bilgi sistemleri kullanılarak belirlenmesi ve 1985-2019 yılları arasındaki değişimin analizi</i> Serkan KILIÇASLAN	638-658
<b>Impact of stale bread utilization on the quality attributes of tarhana production</b> <i>Tarhana üretiminde bayat ekmek kullanımının ürün kalitesi üzerine etkileri</i> Tuğba GÜL DİKME, Osman SAĞDIÇ	659-672
<b>Türk ve Seylan siyah çaylarının fitokimyasal içeriklerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi</b> <i>Determination of phytochemical contents and antioxidant capacities of Turkish and Ceylon black teas</i> Ahmet EFE, Hayrullah YILMAZ, Mehmet BOĞA	673-689
<b>Staphylococcus aureus ile kontamine edilmiş sığır kıymaları üzerine kamkat kabuğu tozu ve kamkat suyunun antimikrobiyal etkisinin araştırılması</b> <i>Investigation of antibacterial effect of kumquat bark powder and kumquat juice on Staphylococcus aureus inoculated into beef</i> Zübeyde POLAT, Halil YALÇIN, Ali SOYUÇOK, Rüveyda ÇOBAN	690-699
<b>The Effects of <i>Laurus nobilis L.</i> and <i>Lavandula stoechas L.</i> essential oils on oxidative stabilities of sunflower and olive oils during accelerated storage</b>	700-710

<p><i>Laurus nobilis L. ve Lavandula stoechas L. esansiyel yağlarının hızlandırılmış depolama sırasında ayçiçeği ve zeytinyağlarının oksidatif stabiliteleri üzerine etkileri</i></p> <p>Özge YÜZEREROĞLU, Aslı YORULMAZ</p>	
<p><b>Quality and antioxidant properties of mixed fruit juice as affected by cold plasma treatment</b></p> <p><i>Soğuk plazma uygulamasının karışık meyve suyunun kalite ve antioksidan özelliklerine etkileri</i></p> <p>Ecre ŞAHİNOĞLU, Celale KIRKIN GÖZÜKIRMIZI</p>	<b>711-719</b>
<p><b>The effect of functional component grape seed powder on the bioactive, physicochemical, and sensory properties of wild cornelian cherry (<i>Cornus mas L.</i>) and blackthorn (<i>Prunus spinosa</i>) fruit leathers</b></p> <p><i>Yabani kıvılcık (<i>Cornus mas L.</i>) ve güvem eriği (<i>Prunus spinosa</i>) pestillerinin biyoaktif, fizikokimyasal ve duyuşsal özelliklerine fonksiyonel bileşen üzüm çekirdeği tozunun etkisi</i></p> <p>Ecre ŞAHİNOĞLU, Celale KIRKIN GÖZÜKIRMIZI</p>	<b>720-727</b>



# Antagonistic potential of *Fusarium oxysporum* as an endophyte isolated from Horse-chestnut tree in the management of *Rhizoctonia solani* under *in-vitro* conditions

## *Rhizoctonia solani*'nin mücadelesinde At Kestanesi ağacından izole edilen *Fusarium oxysporum*'un endofit olarak antagonistik potansiyelinin *in-vitro* koşullarda belirlenmesi

Muhammad Arif<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Sakarya University of Applied Sciences, Arifiye, 54580, Sakarya, Türkiye.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-8631-4873>

### To cite this article:

Arif, M. (2024). Antagonistic potential of *Fusarium oxysporum* as an endophyte isolated from horse-chestnut tree in the management of *Rhizoctonia solani* under *in-vitro* conditions. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 550-563

DOI: 10.29050/harranziraat.1524993

### \*Address for Correspondence:

Muhammad Arif

e-mail:

muhammadarif@subu.edu.tr

### Received Date:

30.07.2024

### Accepted Date:

03.10.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

Symbiotic relationships are established by endophytic microorganisms with their host, resulting in the provision of diverse advantages, such as protection against plant pathogens. Soil-borne pathogens have become a devastating source of infection in many plant species. The environmentally friendly approaches are scarce in managing these soil-borne pathogens. This study was aimed to manage one soil-borne pathogen (*Rhizoctonia solani*) by employing another fungal endophyte (*Fusarium oxysporum*) via mean inhibition zone technique. The fungal endophyte was isolated from horse-chestnut tree leaves. The *R. solani* was extracted from the vegetable's plants showing typical symptoms of root rot and damping off. Both endophyte and pathogen were grown on suitable culture media. The antagonistic activity of collected endophyte for soil-borne pathogen was checked via mean inhibition zone technique under *in-vitro* condition. The diversity indices and isolation frequency analysis revealed that this tree specie has versatile endophytic range. The results from the dual culture experiment assessing the antagonistic activity of endophyte against the soil-borne pathogen (*R. solani*) revealed a significant ( $P < 0.001$ ) impact of the endophyte, evaluation times, and the interaction between endophyte and evaluation times on the size of the pathogen colony. The endophyte exhibited a substantial decrease in pathogen development compared to the control, except between days 11 and 15 after inoculation. The data indicate that *F. oxysporum* contains endophytic potential, which might be investigated for potential biocontrol agents against other soil-borne diseases.

**Key Words:** Chestnut tree; Endophyte; *Fusarium oxysporum*; Diversity indices; *Rhizoctonia solani*; antagonistic potential

### Öz

Endofitik mikroorganizmalar, konakçlarıyla simbiyotik ilişkiler kurarak bitki patojenlerine karşı koruma gibi çeşitli avantajlar sağlamaktadırlar. Toprak kaynaklı patojenler, birçok bitki türünde yıkıcı bir enfeksiyon kaynağı haline gelmiştir. Ancak, bu toprak kaynaklı patojenlerin mücadelesinde kullanılan çevre dostu yaklaşımlar sınırlıdır. Bu çalışma, fungal endofitik mikroorganizma (*Fusarium oxysporum*) kullanarak toprak kaynaklı patojeni olan *Rhizoctonia solani*'nin mücadelesi amaçlamıştır. Endofitik mikroorganizma, at kestanesi ağacının yapraklarından izole edilmiştir. *R. solani*, kök

çürüklüğü ve fide devrilmesi belirtileri gösteren sebze bitkilerinden elde edilmiştir. Hem endofitik mikroorganizma hem de patojen uygun kültür ortamlarında yetiştirilmiştir. Toplanan endofitik mikroorganizmanın toprak kaynaklı patojen üzerindeki antagonistik aktivitesi, *in-vitro* koşulları altında ortalama inhibisyon bölgesi tekniği ile kontrol edilmiştir. Çeşitlilik indeksleri ve izolasyon sıklığı analizi, bu ağaç türünün çeşitli bir endofitik yelpazeye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Endofitik mikroorganizmaların toprak kaynaklı patojene (*R. solani*) karşı antagonistik aktivitesini değerlendiren çift kültür deneyi, endofitik mikroorganizmanın, değerlendirme zamanlarının ve endofitik mikroorganizma ile değerlendirme zamanları arasındaki etkileşimin patojen koloni boyutu üzerinde önemli ( $P < 0.001$ ) bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur. Endofitik mikroorganizma, inokülasyondan sonraki 11 ve 15 günler dışında, kontrol grubuna kıyasla patojen gelişiminde önemli bir azalma göstermiştir. Veriler, *F. oxysporum*'un endofitik potansiyele sahip olduğunu ve diğer toprak kaynaklı hastalıklara karşı potansiyel biyolojik mücadele ajanları olarak araştırılabileceğini göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Kestane ağacı; Endofit; *Fusarium oxysporum*; Çeşitlilik indeksleri; *Rhizoctonia solani*; antagonistik potansiyel

## Introduction

Endophytes refer to microorganisms, including fungi and bacteria, that reside within the tissues of plants, exhibiting a commensal relationship with the host plant, devoid of any discernible detrimental effects. By establishing symbiotic interactions with their host, these organisms provide a range of benefits, including protection against plant diseases. The importance of these endophytes has increased as they exhibit potential as biological control agents, as they possess the capability to assist plants in combating pathogens and improving overall plant health. There exist several significant mechanisms through which endophytes contribute to the biological control of plant pathogens (Gautam & Avasthi, 2019; Rabiey et al., 2019).

Endophytes have the ability to inhabit distinct ecological niches within plant tissues, thereby impeding the access and establishment of pathogenic microorganisms in these niches. Endophytic microorganisms have the potential to augment the plant's capacity to withstand adverse environmental conditions, including but not limited to drought, salinity, and extreme temperatures (Hardoim et al., 2015; McCully, 2001). Stress enhances a plant's susceptibility to infections, and endophytes' stress-tolerance traits may contribute to disease control. The utilization of endophytes as biological control agents has the potential to decrease reliance on chemical pesticides, thereby fostering the adoption of environmentally conscious and sustainable agricultural practices (Singh & Dubey, 2018; Wani et al., 2015).

The *F. oxysporum* species complex encompasses a diverse range of strains that are widely distributed in soils (Nikitin et al., 2023). The bulk of these strains are saprotrophs, capable of colonizing plant roots. However, they mostly function as commensal endophytes and do not have a significant impact on plant fitness. Certain strains of *F. oxysporum*, such as Fo47 and CS-20, have a positive impact on the host by offering protection against root associated pathogens in multiple plant species (De Lamo & Takken, 2020). Non-pathogenic strains of *F. oxysporum* have considerable promise as biocontrol agents against plant pathogens that dwell in the soil. Through utilizing their capacity to compete against pathogens, stimulate plant resistance, and generate antimicrobial substances, these endophytes provide a natural and sustainable strategy for managing plant diseases (Kour et al., 2008).

About 42-50% of the world's food production is wasted as a result of crop losses imposed on by plant diseases caused by plant pathogens. Food production would have been lost twice if the disease management strategy hadn't been used. Plant diseases are mostly caused by oomycetes and fungi, while some by bacteria, viruses and nematodes (Ezrari et al., 2024; Oraon et al., 2024).

There are several soil-borne phytopathogens which are responsible to destroy the quality and quantity of crops and vegetables. Soil-borne pathogens encompass a range of microorganisms, including bacteria, fungi, nematodes, and viruses, which inhabit the soil environment and have the potential to induce diseases in vegetable plants

(Arif, 2024; Ghazali et al., 2022). The ability of these pathogens to endure and persist in the soil for prolonged durations renders them a substantial source of apprehension for agricultural farmers and horticulturists (Adnan et al., 2017; Arif et al., 2021; Meshram & Adhikari, 2024; Tripathi et al., 2024).

*R. solani* is one of the devastating soil-borne pathogens that causes adverse effects on a variety of commercially significant crops. There is a significant variation in the appearance of colonies, biochemical and molecular characteristics, ability to cause disease, and aggressiveness among different members of this species. As a result, they have been categorized into 14 groups that are not compatible with each other, also known as anastomosis groups (AGs) (Akber & Fang, 2024; Rafiq et al., 2024).

It is crucial to acknowledge that not all endophytes exhibit beneficial characteristics, and certain endophytes may even exert adverse impacts on their host plants. Consequently, the identification of suitable endophytes for the purpose of biological control necessitates comprehensive investigation and comprehension of their interactions with the particular plant species and pathogens in question. It is imperative to consider various factors such as host specificity, application methods, and the broader plant-microbe ecosystem in order to ensure the successful integration of these practices in agriculture and forestry (Compant et al., 2024; Xiong et al., 2024). The main purpose of this study was isolation and utilization of potential endophyte as biological control agents against one devastating soil-borne pathogen (*R. solani*). This fungal endophyte *F. oxysporum* exhibited the potential to serve as effective biological control agent for the suppression of soil-borne pathogen (*Rhizoctonia solani*). The collected endophytic organism showed the capability to synthesize secondary metabolites that exhibit toxicity towards pathogens, thereby restricting their capacity to infect plants.

## Material and Methods

### Collection of Specimens

The leaf specimens of Horse-chestnut tree (*Aesculus hippocastanum*) were collected from the garden of the Faculty of Agriculture, Sakarya University of Applied Sciences, 40.698971679765286, 30.34796132350514 and surrounding locations outside the campus, Sapanca 40.71870113026686, 30.252792966279458 district of Sakarya province. To prevent potential contamination with pathogenic microorganisms, the collection process involved gathering healthy and lush green leaves that were disease-free and asymptomatic. All the collected plant specimens were tagged with full information about the plant species, location and coordinates, specimen type, and the date of collection. All the collected leaf specimens were stored in airtight polythene bags to avoid the chances of dying or contamination.

### Surface sterilization of specimens

The collected plant specimens were surface sterilized with the help of disinfectants. A series of surface sterilizations was carried out with running tap water to remove the soil debris and other contaminations. The specimens were soaked in distilled water containing a few drops of Tween buffer for 10 minutes. After soaking, these specimens, including roots, stems, and leaves, were cut into desired small pieces. These small pieces were washed twice with sterile distilled water before the surface sterilization. After washing these small pieces with sterile distilled water, these specimens were surface sterilized using 80% ethanol... Later these specimens were treated with 4% sodium hypochlorite and allowed to rinse with sterile distilled water and, at the end, were treated with 70% alcohol for a period of one minute. After treating with alcohol, these specimens were again washed 8-10 times with sterile distilled water and were desiccated under sterile conditions (Sahu et al., 2022).

### Preparation of suitable media and culturing of

### *Endophytes*

Dormancy of gene clusters is well-known in plant-microbes co-culturing. Under standard laboratory growth conditions, these silent gene clusters encode secondary metabolites that are not expressed or generated. A possible strategy is co-culturing endophytic microorganisms and plants in the same growing medium. After washing these small pieces with ethanol, alcohol, and sodium hypochlorite, these specimens were dehydrated under aseptic conditions to remove the presence of water or disinfectants. The suitable culture media were prepared according to the type of endophyte diversity. The PDA was prepared for growing plant tissue containing endophytes. This media was autoclaved at 121°C for 15 minutes. The pH of the media was adjusted to  $5.6 \pm 0.2$  (Hamzah et al., 2018; Waheeda & Shyam, 2017). The media was poured into petri plates depending upon the size.

### *Growing of endophytes*

All the collected specimens were tested on PDA to check their growth (Hamzah et al., 2018). Two methods, i.e., the spread and pour plate method and the direct plate impression, were used for growing endophytes.

**Direct plate method:** The small pieces of each sterile specimen were placed in petri plates containing the culture media. The small pieces of tissue were placed on petri plates containing culture media. These petri plates were incubated at  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  for a period of 15 days or until the appearance of visible growth in the form of colonies (Rashid et al., 2012).

**Spread and pour plate method:** The aseptically processed sterile tissues were homogenized using a sterile mortar and pestle after removing the outer edge portion. A series of dilutions was carried out to get the final solution. The final solution was inoculated onto the petri plates containing media. All the inoculated plates were incubated at  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  for a period of 15 days or until the appearance of visible growth of endophytes in the form of colonies. The viable colonies were picked for further culturing of this potential

endophyte (Athira & Anith, 2020).

### *Identification of endophytes*

Following 15 days of inoculation, the growth characteristics of endophytic isolates grown on appropriate substrates were examined, including the kind of mycelium, color of the colonies, and the rate of growth in relation to various carbon sources. The emerging colonies were picked from each plate and purified on other petri plates. The common characteristics of fungal endophytes, including complex spore, hyphae arrangement, and reproductive structures, were examined using an Axio Vision upright microscope manufactured by Carl Zeiss in Germany. The viable spores were counted by applying the one colony on slide with lactophenol. The Fungal endophyte was identified by comparing its morpho-cultural characteristics with data extracted from published literature and online resources (Song et al., 2016; Zakaria & Aziz, 2018). At last, fungal samples were placed for re-culturing again on PDA plates and kept at room temperature for a maximum of three weeks to provide more clarity. The grown endophyte was stored at a suitable temperature for further pathogenicity analysis. Shannon wiener index was used to calculate the diversity index of endophyte from multiples samples of this tree (Safaie et al., 2024).

### *Isolation of soil-borne pathogens*

The soil-borne pathogens were extracted from the vegetable species grown in Arifiye, Sakarya. The cultures of some soil-borne pathogens, including *Rhizoctonia*, *Fusarium*, and *Pythium*, are already available in plant protection laboratory which were extracted from soil of vegetable fields. The (*R. solani*) was extracted and purified as described in published literature (Arif, 2024). The isolated soil-borne pathogens were identified with the help of manuals or published literature. The most devastating soil-borne phytopathogenic (*R. solani*) was selected for pathogenicity analysis against the collected endophyte.

### *Single spore isolation of potential endophyte and*

*pathogen*

After the appearance of fungal colonies of *F. oxysporum* and *R. solani*, a colony illustrating the characteristic morphological features was selected. Spores were collected by gently touching the sporulating area of the colony using a sterile needle with inoculation loop. The spores were placed in sterile water on a microscope slide. The spore suspension was diluted to ensure the individual spores were separated (Parsa et al., 2013). By employing a micropipette, a minute quantity (e.g., 10-20  $\mu$ L) of the diluted spore solution was carefully moved onto a newly prepared PDA plate. The suspension was equally dispersed to achieve proper segregation of individual spores. The plate was placed in a controlled environment with a temperature range of 25-28°C and left undisturbed for a period of 24-48 hours. The spore concentrations (spores/ml), viable spore concentrations (cfu/ml) of both *F. oxysporum* and *R. Solani* were counted by using the Hemocytometer or Neubauer chamber under electron microscope.

*Antagonistic activity of endophyte against Rhizoctonia solani*

The collected endophyte was tested against (*R. solani*) under in-vitro condition. The selected cultures of both endophyte and pathogen were assessed by the mean inhibition zone technique. The culture of the pathogen was placed in the center of a petri plate via cork borer, and then one culture of endophyte was spread around the inoculated pathogen. The antagonistic activity of endophyte on pathogen was measured by following the method of (Comby et al., 2017; Kara & Soyulu, 2022). Following the randomized plot design (CRD), three replications were set up for each application of in vitro biocontrol, and the experiments were performed twice. A one-way ANOVA analysis was performed on the mycelial inhibition values in the petri dishes using the SPSS statistical program (SPSS Statistics 17.0). The differences between the isolates were examined using the Duncan Multiple Range Test ( $P \leq 0.05$ ). Mean inhibition zone analysis also known as Kirby-

Bauer test was calculated by following equation.

$$\text{Mean inhibition zone MI (\%)} = \frac{M-R}{M} \times 100$$

The inhibition rate is indicated by MI in percent form, the mycelial appearance of the fungal isolate on media is indicated by M, and the mycelial appearance of the fungal isolate with endophyte is indicated by R.

*Data Analysis*

The mean inhibitory zones between the endophytic fungi and *R. solani* on PDA was examined using the analysis of variance (ANOVA) Procedure in the SAS program (SAS Institute, Cary, NC, USA, Version 8.0, 1999). The mean values of each parameter for different endophytic fungi were compared using Duncan's multiple range test at a significance level of  $P = 0.05$ . The SAS software UNIVARIATE was employed to evaluate the data on the dry biomass of individual plants. The analysis compared the control treatment with each treatment involving an endophytic fungus. Additionally, the analysis examined the percentages of inhibition of *R. solani* growth caused by the volatile organic compounds (VOCs) produced by *F. oxysporum*. The mean values were compared using the Tukey's t-test, with a significance level of  $P < 0.01$  or  $0.05$ .

**Results and Discussion**

Recently, there has been considerable interest in a group of fungi known as dark septate endophytes (DSE) that live in the roots of plants. This study also focused on same DSE which was obtained from a horse-chestnut tree. The *F. oxysporum* was used to manage another soil-borne pathogen (*R. solani*) under in-vitro conditions. Multiple independent investigations have indicated that a wide range of endophytic *F. oxysporum* strains has the ability to provide biocontrol, suggesting this as common characteristic (Jaber & Alananbeh, 2018).

The horse-chestnut leaves (midrib, lamina and petiole) that were selected for sampling were

divided into squares of 3 centimeters on each side. Its binomial classification was extracted from published data as shown in table 1. At each stage

of growth, three leave parts were taken from the selected.

Table 1. Binomial classification of Horse-chestnut from which endophyte was isolated.

<b>Kingdom</b>	<i>Plantae</i>
<b>Clade</b>	<i>Tracheophytes</i>
<b>Clade</b>	<i>Angiosperms</i>
<b>Clade</b>	<i>Eudicots</i>
<b>Clade</b>	<i>Rosids</i>
<b>Order</b>	<i>Sapindales</i>
<b>Genus</b>	<i>Aesculus</i>
<b>Species</b>	<i>A. hippocastanum</i>

The overall rate of isolation and frequency of diversity indices was measured from each collected sample. The tree samples collected from inside the campus showed a higher diversity and isolation rate for the single endophyte. The 20 samples were collected from inside the campus while 15 from outside the campus. The positive samples from which endophyte was recovered were 13 from inside the campus, while 7 from outside the vegetative area of campus. The degree of isolation/sample was 0.65 for the samples from inside the campus, while 0.45 was from samples collected outside the campus. The diversity indices for both locations were 1.70 and 2.14 as shown in table 2. The positive sample ratio was high in the samples of inside the campus. The *F. oxysporum* was the most common single specie found at both sites in the current investigation. However, this endophyte was only sometimes found in this tree species. Proposing that growth of these endophytes may be hindered by unfavorable environmental conditions or by the presence of more competitive endophytes that have already established a strong presence in the host tissue. There has been much discussion over the importance of the endophytic community in endophyte/plant interactions. Endophytes engage in interactions and share functional similarities with other essential microbial communities that inhabit plant tissue, such as pathogens, epiphytes, and saprotrophs. Multiple studies have demonstrated that the existence of endophytes within plant tissues can provide specific benefits to

the host plant. Fungal endophytes have the ability to influence plant growth and the way plants respond to infections, herbivores, and changes in the environment. Additionally, certain fungal endophytes can enhance the heat tolerance of the plants they inhabit. Fungal endophytes are a varied collection of fungus belonging to the ascomycetous class. They are characterized by their presence in healthy plant tissues without causing any symptoms. These endophytes have been discovered in plants from all plant families (Comby et al., 2017; Imazaki & Kadota, 2015; Larran et al., 2016).

The mature leaves of the chestnut tree were exposed to fungal propagules for a longer period of time, which led to their growth as endophytes. Additionally, mature leaves provide greater amounts of fungal endophytes as they increase the rate of photosynthetic activity. Interestingly, though, some endophytes found in immature leaves are absent or appear less frequently in adult leaves. Endophytic fungi are a varied collection of fungi that colonize plant tissue without causing any symptoms and do so periodically. The commonly observed genera are *Penicillium*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Aspergillus*, and *Xylaria*. However, the probability of isolation varies depending on factors such as the plant species and genotypes, plant tissue samples, the geographic location of the plant, and the sampling season. Moreover, endophytic strains can be distinguished from non-endophytic strains due to their distinct evolutionary and ecological background. They



engage in saprophytic, communalistic, or mutualistic interactions with their host plant (Galindo-Solís & Fernández, 2022; Rashmi et al., 2019; Schouten, 2019).

Table 2. The overall rates of isolation and diversity Index of endophytic fungi at collected site.

Site	Inside the Campus	Outside the Campus
Total number of samples collected	20	15
No of +ve samples from which endophyte was recovered	13	7
Isolates/sample	0.65	0.45
Diversity index	1.70	2.14

Table 2 displays the overall rate of isolation for the endophyte assemblages and the diversity indices at each site. A notable disparity in endophyte compositions was observed between the two locations (*Chi-square, p < 0.005*). The samples obtained from the campus area shown greater overall isolation rates in comparison to places located outside of it. The two sites vary in terms of their floral composition and spatial arrangement. The chestnut tree within the campus area are surrounded by other native floral species and a proper maintenance is provided

every time, while the host sampled is dispersed and bordered by exotic plants outside of the campus area. Because of the host's dispersed dispersion, there is a limited supply of endophytic inoculum, which explains the poor isolation rates seen outside of the campus area. However, outside of the campus area, a higher diversity of endophytes was seen, indicating that endophytes from the surrounding vegetation can also develop in chestnut trees through stomata or other natural openings as shown in tale 2 and 3.

Table 3. The rates of isolation and diversity indices for the lamina, midrib, and petioles of old and young Chestnut tree leaves.

Tree part/tissue		No of collected samples	No of +ve isolates	Degree of isolation	Diversity indices
Mid-rib	inside the campus	8	7	0.87	1.14
Petiole		7	3	0.42	2.33
Lamina		5	3	0.60	1.66
Mid-rib	outside the campus	8	4	0.50	2.00
Petiole		5	2	0.40	2.5
Lamina		2	1	0.50	2.00

The quantity of isolates found in the vein and inter-vein tissues did not differ significantly ( $p > 0.005$ ). Regardless of leaf age, more isolates were found in the veins than in the laminas as depicted in table 3. *A. hippocastanum* plants grow in the campus area as shadow trees. The leaves that have been colonized the most are those that are closest to the soil, where endophytic fungi can more easily penetrate and colonize due to increased humidity levels. The presence of more endophytic fungus may also be influenced by the closeness of leaves to litter.

Compared to the midrib and/or petiole, the lamina is reported to be less vulnerable to

endophytic infection. The preservation and deposition of spores are influenced by the physical characteristics of the leaf. These include the way water behaves when it reaches the leaf and the way runoff and evaporation patterns occur, all of which work in the midrib and petiole's favour. Additionally, the number of stomata present at particular leaf segments influences endophyte colonization via airborne sources. In terms of nutrition, endophytic fungi are supported more in the midrib and petioles because they typically have more vascular bundles than the intervein region. In comparison to the other tissues analysed, the lamina's fungal endophyte diversity was

comparatively lower.

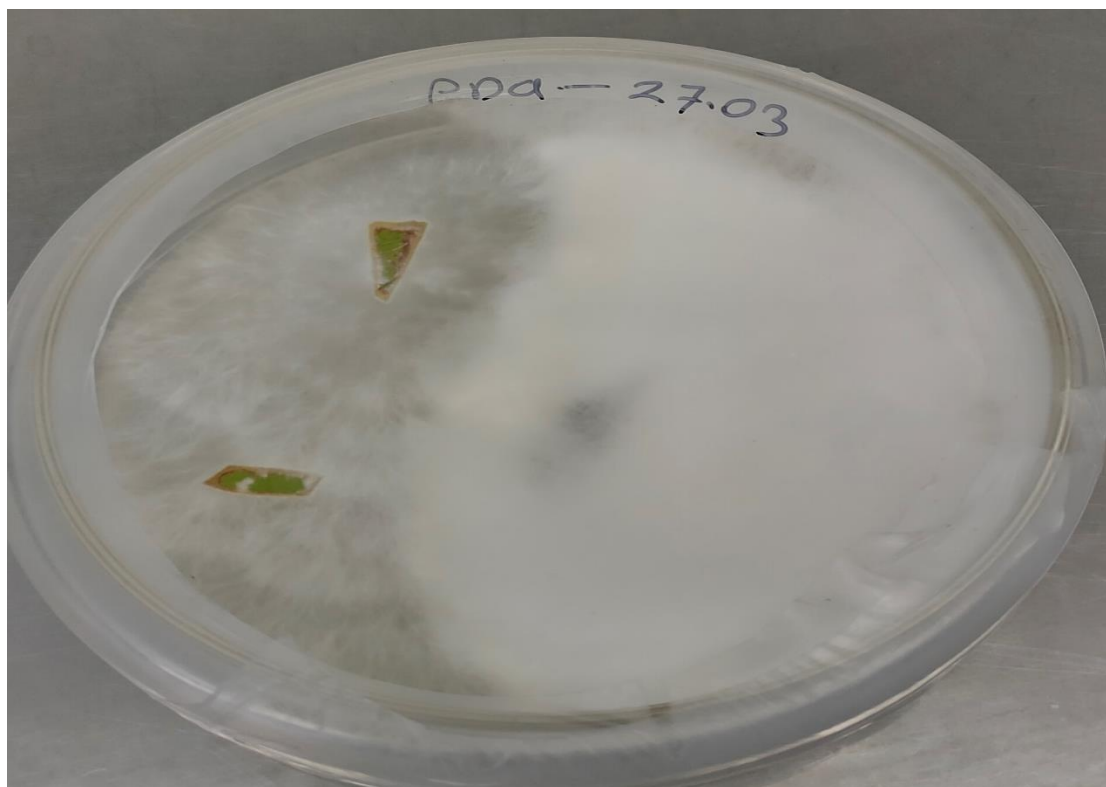


Figure 1. The schematic diagram of colony of *F. oxysporum* on PDA after 2 weeks. The three pieces were placed in each petri-plate for observing the growth of endophytic fungi. Its colony was confirmed by growing and isolating a single spore from each designated petri-plate and its morphological spore structure was observed under microscope.

The endophytic fungi were maintained on PDA at a temperature of 20°C in the absence of light, until the colonies grew to the edge of the dishes. Each fungal isolate was assessed for its colony morphology, which included color and mycelia, as well as the type of spores generated (conidia, blastospores, sporangiospores, or ascospores). This information was utilized to identify the taxonomic classification of each isolate as shown in figure. 1. Pale whitish color was observed after one week of incubation and then start to increase its growth after each day. After 4 weeks of incubation, the incubated plates were removed and stored in refrigerated. The single spore was isolated from the growth of each plate and diluted to check its spore structure and morphology. The diluted culture was saved for further characterization as mycelial inhibitory effect on

other devastating soil-borne pathogens. The *R. solani* was selected as phytopathogen to check the efficacy of this endophyte on this soil-borne pathogen. The updated binomial classification was retrieved from the database of soil-borne pathogens as shown in table 4. The fungal hyphae get access to plant roots through many means, such as entering through wounds, fissures in the outer layer of the root, emergence points of lateral roots, or by directly penetrating the tip of the root. The hyphae penetrate the vascular stele by passing through the apoplast of the root cortex. Occasionally, there is evidence of intracellular development accompanied with the demise of the host cell, which is more commonly detected in nonpathogenic strains (Maciá-Vicente et al., 2009; Pérez et al., 2016).

Table 4. Updated taxonomic classification of studied soil-borne pathogen (*R. solani*)

Domain	Eukarya
Kingdom	Fungi
Sub-kingdom	Dikarya
Phylum	<i>Basidiomycota</i>
Sub-phylum	<i>Agaricomycotina</i>
Class	<i>Agaricomycetes</i>
Order	<i>Cantharellales</i>
Family	<i>Ceratobasidiaceae</i>
Genus	<i>Rhizoctonia</i>

The occurrence of an inhibitory zone between endophyte strains and soil-borne pathogens, which corresponds to antibiosis, was identified by dual culture experiments. The fungal colonies were transferred to new PDA dishes, with one colony per dish, and kept at a temperature of 20°C. The fungal cultures obtained were purified by the process of isolating a single spore or a single hypha tip. Ultimately, the uncontaminated cultures were preserved in a solution of 20% glycerol (volume/volume) at a temperature of -80°C.

The results from the dual culture experiment assessing the antagonistic activity of endophytes against the soil-borne pathogen (*R. solani*)

revealed a significant ( $P < 0.001$ ) impact of the endophyte, evaluation times, and the interaction between endophytes and evaluation times on the size of the pathogen colony. The under-investigation endophyte shown a significant decrease in pathogen growth in comparison to the control group within the time span of 7 to 28 days following inoculation. The inhibitory impact was most prominently observed over the initial 3-7 days (Gr1). The growth rates of 2 and 3 were hindered when the pathogen colony reached the border of the petri-dishes after 7 days or halted to expand.

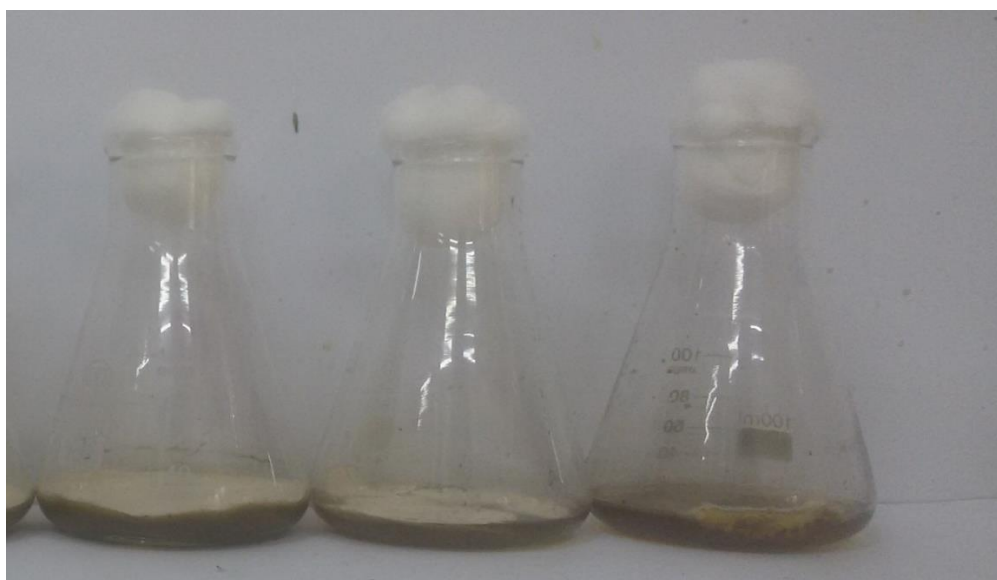


Figure 2. The growth of *R. solani* on PDA media inside the flasks. The colony of pathogen was observed after 7 days. A series of dilutions were carried out to obtain the single spore of this pathogen.

Upon evaluating the colony interaction between endophyte and pathogens on PDA in all possible paired combinations, we noticed many forms of interactions. The figure illustrates 2 the interactions between a pathogen and an endophyte, with the following categories being

designated: Situation 1 refers to the growth of two organisms, *R. solani* and *F. oxysporum*., that are mutually blending. Situation 2 refers to a similar growth pattern, but with *F. oxysporum* growing above *R. solani*. Situation 3 describes an instance where *R. solani* ceases to grow and is being

overgrown by *F. oxysporum*. Situation 4 involves mutual inhibition at a distance, where the

pathogen is opposed to *F. oxysporum*. The control group consists of the pathogen.

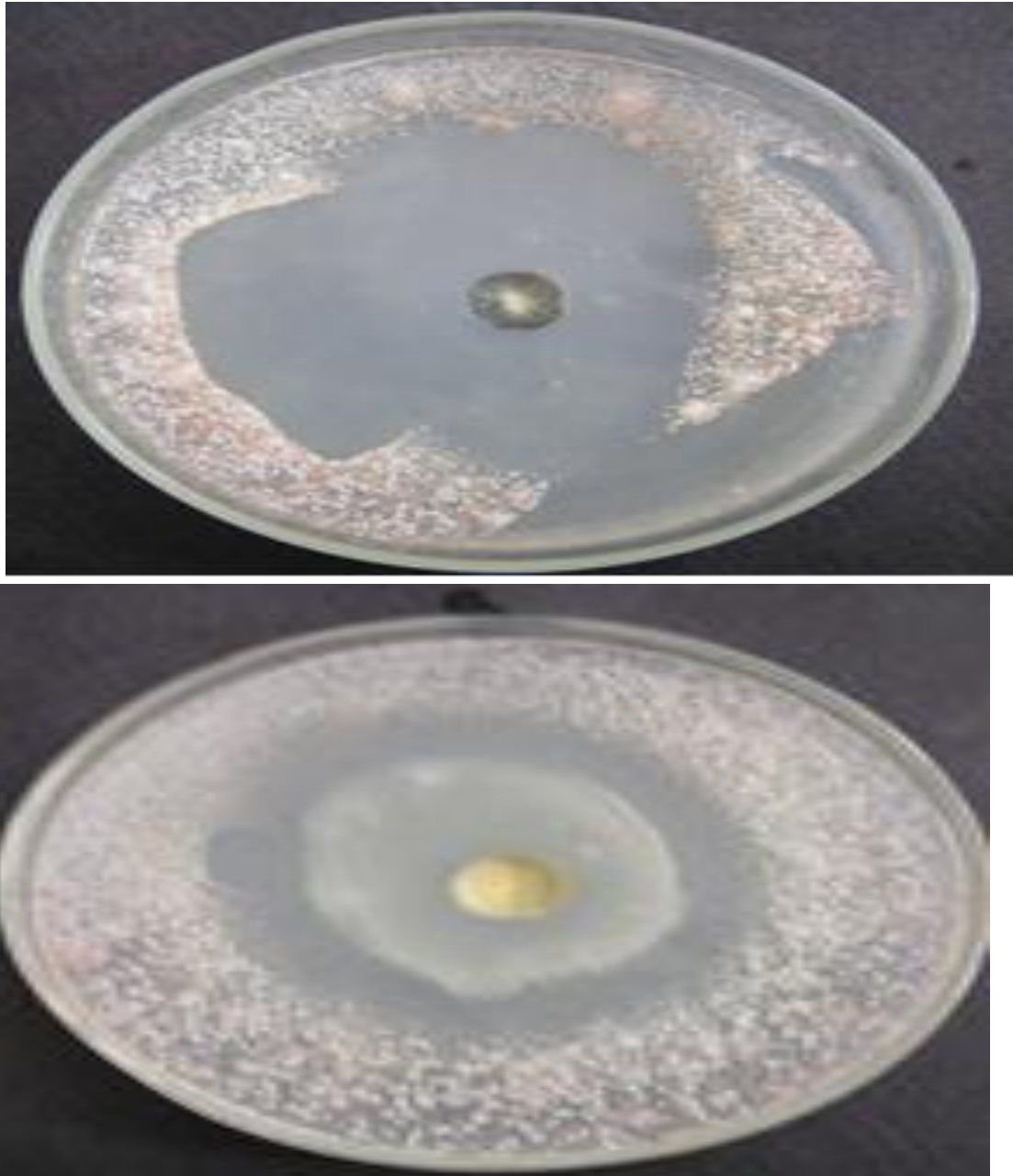


Figure 3. The mean inhibition zone activity of *F. oxysporum* on *R. solani* on PDA medium after 2 weeks. In the middle of the plate, the selected endophyte was paced and other parts of the plates, the soil-borne pathogen was scattered.

The study conducted an analysis of variance (ANOVA) to compare the growth rates of *R. solani*

in the presence of the endophyte *F. oxysporum* at four different evaluation times.

Table 5. ANOVA for the Endophytic efficacy of *F. oxysporum* against *R. solani* under in-vitro experimental conditions

Source of variation (SOV)	Means squares	Degree of freedom (DF)	F values	P values
Endophyte	142.44	9	149.2	$P<0.001$
Experiment	0.270	1	0.26	0.592
endophyte*experiment	0.452	9	0.50	0.881
Errors	0.958	55		
time period	157.60	4	1945.80	$P<0.001$
time period*experiment	0.091	4	1.20	0.302
endophyte*time period	9.450	36	116.50	$P<0.001$
experiment*endophyte*time period	0.145	36	2.05	0.012
Errors	0.083	220		

The findings from the dual culture experiment assessing the antagonistic activity of endophytes against *R. solani* indicate a substantial ( $P < 0.001$ ) impact of the endophyte, evaluation times, and the interaction between endophyte and evaluation times on the size of the pathogen colony. With the exception of days 11 through 15 following inoculations, the endophyte showed a significant reduction in pathogen development as compared to the control (Table 5 and 6). According to Table 7, the most effective suppression was observed during the initial 3-7 days (Gr1). The growth rates of 2 and 3 led to decreased values as the pathogen colony reached the border of the petri-dishes after 7 days or ceased to expand. This concept was substantiated by a study in which more than 200 distinct nonpathogenic *F.*

*oxysporum* strains obtained from a tomato field demonstrated the ability to provide biocontrol in tomatoes. Furthermore, it should be noted that the biocontrol method using *F. oxysporum* has proven to be highly efficient in a diverse range of plant species, encompassing both monocotyledonous and dicotyledonous species. *F. oxysporum* has the ability to control certain illnesses caused by oomycetes. *F. oxysporum* (Fo-47) has been documented to decrease the occurrence of diseases caused by *P. oligandrum* in tomatoes, *P. ultimum* in cucumbers, and *P. capsici* in peppers. One shared characteristic of these pathogens is their ability to infect roots. However, unlike other pathogenic *F. oxysporum* strains, not all of them colonize the vasculature (Cucu et al., 2020; Kaur et al., 2011).

Table 6. ANOVA to examine the growth rates of *R. solani* in the presence of endophyte at four different evaluation times in an in-vitro test.

Source of variation (SOV)	Means squares	Degree of freedom (DF)	F values	P values
Endophyte	0.839	9	175.2	$P<0.001$
Experiment	0.018	1	0.48	0.500
endophyte*experiment	0.005	9	1.36	0.890
Errors	0.858	59		
time period	8.66	2	932.05	$P<0.001$
time period*experiment	0.018	2	2.00	0.145
endophyte*time period	0.572	18	62.80	$P<0.001$
experiment*endophyte*time period	0.19	18	2.15	0.015
Errors	0.008	120		

The experiment aimed to assess the endophyte's capacity to hinder spore germination. The findings demonstrate that the chosen endophyte dramatically decreased the percentage of spore germination in the pathogen colony by

80% and 50% in comparison to the control as shown in table 7. Upon conducting microscopic investigations, distinct variations in the morphology of hyphae and conidia were observed between the treatments and the control, in the

pathogen samples obtained from the perimeters of colonies and the paired suspension assay.

Table 7. Means of soil-borne fungal species' (*R. solani*) growth rates and diameters at four assessment intervals during an in-vitro experiment

Experiment	Growth means of <i>R. solani</i> (cm)				Days wise growth (cm/day)		
	7	14	21	28	1	2	3
Control treatment (without endophyte)	3.05 <sup>d</sup>	8.75 <sup>e</sup>	9.02 <sup>e</sup>	9.06 <sup>e</sup>	1.45 <sup>e</sup>	0.06 <sup>a</sup>	0.01 <sup>b</sup>
<i>F. oxysporum</i>	1.75 <sup>ab</sup>	1.92 <sup>b</sup>	1.92 <sup>b</sup>	1.92 <sup>b</sup>	0.04 <sup>b</sup>	0.01 <sup>b</sup>	0.01 <sup>b</sup>
LSD values 5%	0.34				0.32		
Means	2.12 <sup>b</sup>	2.16 <sup>c</sup>	2.20 <sup>a</sup>	2.25 <sup>b</sup>	2.54 <sup>c</sup>	2.72 <sup>b</sup>	3.02 <sup>b</sup>
LSD values 5%	0.15				0.16		

Means indicates that the observed similarities in letter sharing are not statistically significant according to the LSD Test at a significance level of  $P = 0.05$ .

## Conclusion

In summary, one soil-borne pathogen (*R. solani*) was managed by means of employing another soil-borne pathogen obtained from chestnut tree as endophyte (*F. oxysporum*) by the means of inhibition zone technique under in-vitro conditions. The results of this study will be helpful to manage this soil-borne pathogens via the endophytes as an environment friendly approach. These endophytes can be used as an alternate of fungicidal control of many plant diseases both under in-vivo and in-vitro conditions.

## Funding

The work was supported by project number BAP-179-2023, Sakarya University of Applied Sciences, Sakarya, Türkiye.

## Author's Contributions

Muhammad Arif was responsible for conceptualization, experimental design's, methodology, analysis, resources, supervision, execution, and writing initial, review and final draft of this manuscript.

## Studies in humans and animals

This work does not involve the study of humans and animals.

## Conflict of interest

Author declares that no financial or competing interest.

## Data availability

All data available within the manuscript.

## Consent for publication

Not applicable

## Acknowledgment

The author is thankful to the Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Sakarya University of Applied Sciences for providing lab facilities and SUBU: BAP funding with number (BAP-179-2023) for this work. The author is also thankful to Furkan Doğan for his continuous support in the laboratory.

## References

- Adnan, M., Zheng, W., Islam, W., Arif, M., Abubakar, Y. S., Wang, Z., & Lu, G. (2017). Carbon catabolite repression in filamentous fungi. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 48.
- Akber, M. A., & Fang, X. (2024). Research Progress on Diseases Caused by the Soil-Borne Fungal Pathogen *Rhizoctonia solani* in Alfalfa. *Agronomy*, 14(7), 1483.
- Arif, M. (2024). Unraveling the diversity and spatial distribution of Soil-borne Fungal Mycobiomes with response to environmental parameters, cropping schemes and cropping seasons. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 5(1), 19-32.
- Arif, M., Fawaz, M. S., Zuan, A. T. K., Shah, R. U., Ullah, R., Elshehawi, A. M., Al-Sadi, A. M., Ullah, M. I., Güldür,

- M. E., & Alotaibi, S. S. (2021). The impact of different biochars on *Stemphylium* leaf blight (SLB) suppression and productivity of onion (*Allium cepa* L.). *Journal of King Saud University-Science*, 33(7), 101575.
- Athira, S., & Anith, K. (2020). Plant growth promotion and suppression of bacterial wilt incidence in tomato by rhizobacteria, bacterial endophytes and the root endophytic fungus *Piriformospora indica*. *Indian Phytopathology*, 73(4), 629-642.
- Comby, M., Gacoin, M., Robineau, M., Rabenoelina, F., Ptas, S., Dupont, J., Profizi, C., & Baillieux, F. (2017). Screening of wheat endophytes as biological control agents against *Fusarium* head blight using two different in vitro tests. *Microbiological Research*, 202, 11-20.
- Compant, S., Cassan, F., Kostić, T., Johnson, L., Brader, G., Trognitz, F., & Sessitsch, A. (2024). Harnessing the plant microbiome for sustainable crop production. *Nature Reviews Microbiology*, 1-15.
- Cucu, M. A., Gilardi, G., Pugliese, M., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2020). An assessment of the modulation of the population dynamics of pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in the tomato rhizosphere by means of the application of *Bacillus subtilis* QST 713, *Trichoderma* sp. TW2 and two composts. *Biological control*, 142, 104158.
- De Lamo, F. J., & Takken, F. L. (2020). Biocontrol by *Fusarium oxysporum* using endophyte-mediated resistance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 37.
- Ezrari, S., Legrifi, I., Taoussi, M., Khadiri, M., Belabess, Z., & Lahlali, R. (2024). Plant-Pathogen Interactions and Global Food Security. In *Plant Pathogen Interaction* (pp. 11-52). Springer.
- Galindo-Solís, J. M., & Fernández, F. J. (2022). Endophytic fungal terpenoids: Natural role and bioactivities. *Microorganisms*, 10(2), 339.
- Gautam, A. K., & Avasthi, S. (2019). Fungal endophytes: potential biocontrol agents in agriculture. In *Role of plant growth promoting microorganisms in sustainable agriculture and nanotechnology* (pp. 241-283). Elsevier.
- Ghazali, H. M. Z. U., Akram, S., Fatima, I., Hussain, M., Hameed, A., Arif, M., Ahmed, M. A., Al-Ghamdi, A. A., Elshikh, M. S., & Alrashidi, B. O. O. (2022). Fungi species causing dieback and wilt diseases in shisham [*Dalbergia sissoo* (Roxb)] and impact of various fungicides on their management. *Journal of King Saud University-Science*, 34(4), 101970.
- Hamzah, T. N. T., Lee, S. Y., Hidayat, A., Terhem, R., Faridah-Hanum, I., & Mohamed, R. (2018). Diversity and characterization of endophytic fungi isolated from the tropical mangrove species, *Rhizophora mucronata*, and identification of potential antagonists against the soil-borne fungus, *Fusarium solani*. *Frontiers in microbiology*, 9, 1707.
- Hardoim, P. R., Van Overbeek, L. S., Berg, G., Pirttilä, A. M., Compant, S., Campisano, A., Döring, M., & Sessitsch, A. (2015). The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes. *Microbiology and molecular biology reviews*, 79(3), 293-320.
- Imazaki, I., & Kadota, I. (2015). Molecular phylogeny and diversity of *Fusarium* endophytes isolated from tomato stems. *FEMS microbiology ecology*, 91(9), fiv098.
- Jaber, L. R., & Alananbeh, K. M. (2018). Fungal entomopathogens as endophytes reduce several species of *Fusarium* causing crown and root rot in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Biological control*, 126, 117-126.
- Kara, M., & Soylu, S. (2022). Isolation of endophytic bacterial isolates from healthy banana trees and determination of their in vitro antagonistic activities against crown rot disease agent *Fusarium verticillioides*. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 27(1), 36-46.
- Kaur, R., Kaur, J., & Singh, R. S. (2011). Nonpathogenic *Fusarium* as a biological control agent. *Plant Pathology Journal*, 9(3), 79-91.
- Kour, A., Shawl, A. S., Rehman, S., Sultan, P., Qazi, P. H., Suden, P., Khajuria, R. K., & Verma, V. (2008). Isolation and identification of an endophytic strain of *Fusarium oxysporum* producing podophyllotoxin from *Juniperus recurva*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 1115-1121.
- Larran, S., Simon, M. R., Moreno, M. V., Siurana, M. S., & Perelló, A. (2016). Endophytes from wheat as biocontrol agents against tan spot disease. *Biological control*, 92, 17-23.
- Maciá-Vicente, J., Rosso, L., Ciancio, A., Jansson, H. B., & Lopez-Llorca, L. (2009). Colonisation of barley roots by endophytic *Fusarium equiseti* and *Pochonia chlamydosporia*: effects on plant growth and disease. *Annals of Applied Biology*, 155(3), 391-401.
- McCully, M. E. (2001). Niches for bacterial endophytes in crop plants: a plant biologist's view. *Functional Plant Biology*, 28(9), 983-990.
- Meshram, S., & Adhikari, T. B. (2024). Microbiome-Mediated Strategies to Manage Major Soil-Borne Diseases of Tomato. *Plants*, 13(3), 364.
- Nikitin, D. A., Ivanova, E. A., Semenov, M. V., Zhelezova, A. D., Ksenofontova, N. A., Tkhakakhova, A. K., & Kholodov, V. A. (2023). Diversity, ecological characteristics and identification of some problematic phytopathogenic *Fusarium* in soil: a review. *Diversity*, 15(1), 49.
- Oraon, S., Padamini, R., Shahni, Y. S., Das, N., Sinha, D., Sujatha, G., Singh, O. B., & Karanwal, R. (2024). Impact of Emerging Pathogens in Crop Production.

- Microbiology Research Journal International*, 34(7), 80-92.
- Parsa, S., Ortiz, V., & Vega, F. E. (2013). Establishing fungal entomopathogens as endophytes: towards endophytic biological control. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*(74), e50360.
- Pérez, L. I., Gundel, P. E., & Omacini, M. (2016). Can the defensive mutualism between grasses and fungal endophytes protect non-symbiotic neighbours from soil pathogens? *Plant and Soil*, 405, 289-298.
- Rabiey, M., Hailey, L. E., Roy, S. R., Grenz, K., Al-Zadjali, M. A., Barrett, G. A., & Jackson, R. W. (2019). Endophytes vs tree pathogens and pests: can they be used as biological control agents to improve tree health? *European Journal of Plant Pathology*, 155, 711-729.
- Rafiq, M., Shoaib, A., Javaid, A., Perveen, S., Umer, M., Arif, M., & Cheng, C. (2024). Exploration of resistance level against Black Scurf caused by *Rhizoctonia solani* in different cultivars of potato. *Plant Stress*, 12, 100476.
- Rashid, S., Charles, T. C., & Glick, B. R. (2012). Isolation and characterization of new plant growth-promoting bacterial endophytes. *Applied Soil Ecology*, 61, 217-224.
- Rashmi, M., Kushveer, J., & Sarma, V. (2019). A worldwide list of endophytic fungi with notes on ecology and diversity. *Mycosphere*, 10(1), 798-1079.
- Safaie, N., Salehi, M., Felegari, M., Farhadi, S., Karimzadeh, S., Asadi, S., Yang, J.-L., & Naghavi, M. R. (2024). Culture-based diversity of endophytic fungi of three species of *Ferula* grown in Iran. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1363158.
- Sahu, P. K., Tilgam, J., Mishra, S., Hamid, S., Gupta, A., K. J., Verma, S. K., & Kharwar, R. N. (2022). Surface sterilization for isolation of endophytes: Ensuring what (not) to grow. *Journal of Basic Microbiology*, 62(6), 647-668.
- Schouten, A. (2019). Endophytic fungi: definitions, diversity, distribution and their significance in plant life. In *Endophyte biotechnology: potential for agriculture and pharmacology* (pp. 6-31). CABI Wallingford UK.
- Singh, R., & Dubey, A. K. (2018). Diversity and applications of endophytic actinobacteria of plants in special and other ecological niches. *Frontiers in microbiology*, 9, 1767.
- Song, J., Pongnak, W., & Soyong, K. (2016). Isolation and identification of endophytic fungi from 10 species palm trees. *International J Agric Technol*, 12(2), 349-363.
- Tripathi, A., Maurya, S., Pandey, K., & Behera, T. (2024). Global Scenario of Vegetable Fungal Diseases. *Vegetable Science*, 51, 54-65.
- Waheeda, K., & Shyam, K. (2017). Formulation of novel surface sterilization method and culture media for the isolation of endophytic actinomycetes from medicinal plants and its antibacterial activity. *J Plant Pathol Microbiol*, 8(399), 2.
- Wani, Z. A., Ashraf, N., Mohiuddin, T., & Riyaz-Ul-Hassan, S. (2015). Plant-endophyte symbiosis, an ecological perspective. *Applied microbiology and biotechnology*, 99, 2955-2965.
- Xiong, X., Zeng, J., Ning, Q., Liu, H., Bu, Z., Zhang, X., Zeng, J., Zhuo, R., Cui, K., & Qin, Z. (2024). Ferroptosis induction in host rice by endophyte OsSh-2 is necessary for mutualism and disease resistance in symbiosis. *Nature communications*, 15(1), 5012.
- Zakaria, L., & Aziz, W. N. W. (2018). Molecular identification of endophytic fungi from banana leaves (*Musa* spp.). *Tropical life sciences research*, 29(2), 201.





# The effects of different amounts of branched broomrape (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) seeds on some cultivated plants

## Farklı oranlarda mavi çiçekli canavar otu (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) tohumlarının bazı kültür bitkileri üzerindeki etkileri

Enes FİDAN<sup>1\*</sup>  Reyhan YERGIN ÖZKAN<sup>2</sup> , Işık TEPE<sup>3</sup> ,

<sup>1-2-3</sup>Van Yüzüncü Yıl University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Van, Turkey.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-4567-2375>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-2319-404X>; <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0002-9156-9467>

### To cite this article:

Fidan, E., Yergin Özkan, R. & Tepe, I. (2024). The effects of different amounts of branched broomrape (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) seeds on some cultivated plants. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 564-569

DOI: 10.29050/harranziraat.1561651

### \*Address for Correspondence:

Enes FİDAN

e-mail:

enesfidan@yyu.edu.tr

### Received Date:

07.10.2024

### Accepted Date:

26.11.2024

© Copyright 2018 by Harran University  
Faculty of Agriculture. Available on-line  
at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (Syn: *Orobancha ramosa* L.), also known as branched broomrape, is a holoparasite belonging to the family Orobanchaceae. Broomrape prefers tomato, eggplant and potato from Solanaceae family and lentil, sunflower and broad bean from legumes as hosts. In this study, it was aimed to determine the effects of different rates of branched broomrape seeds on some plant growth parameters. The study was carried out in the laboratory and climate room of Van Yüzüncü Yıl University Plant Protection Department in 2022. In the study, branched broomrape, tomato, eggplant and pepper plants were used. Before these plants were planted 250, 500, 1000, 2000, and 4000 seeds of branched broomrape were mixed homogeneously to a soil depth of 8 cm in each pot. The experiment was planned according to the completely randomized experimental design with four replications; two tomatoes, two peppers and one eggplant in each pot. According to the results, it was observed that broomrape was attached only to the roots of tomato and eggplant, but not peppers. The increase in the amount of branched broomrape seeds increased the number of tubercles. It was determined that the number of leaves, shoot length, root length, shoot diameter, chlorophyll content, total fresh and dry biomass of tomato and the number of leaves and shoot length in eggplant decreased as the weed infestation increased. It can also be stated that the increased number of seeds did not have a negative effect in terms of intraspecific competition.

**Key Words:** Branched broomrape, Parasitic plant, Seed, Vegetables.

### ÖZ

Mavi çiçekli canavar otu olarak da bilinen *Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (Syn: *Orobancha ramosa* L.), Orobanchaceae familyasına ait bir holoparazit bir bitkidir. Canavar otu patlıcangiller familyasından domates, patlıcan ve patatesi; baklagillerden ise mercimek, ayçiçeği ve baklayı konukçu olarak tercih eder. Bu çalışmada, farklı oranlarda canavar otu tohumlarının bazı bitki büyüme parametreleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma 2022 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bitki Koruma Bölümü iklim odası ve laboratuvarlarında yürütülmüştür. Çalışmada canavar otu domates, patlıcan ve biber bitkileri kullanılmıştır. Bu bitkilerin tohumları ekilmeden önce her saksıya 250, 500, 1000, 2000 ve 4000 adet canavar otu tohumu 8 cm toprak derinliğine homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Deneme tesadüf parselleri deneme desenine göre dört tekerrürlü; her saksıda iki domates, iki biber ve bir patlıcan bitkisi olacak şekilde planlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, canavar otunun sadece

domates ve patlıcan köklerine tutunduğu, biberde ise tutunmadığı gözlenmiştir. Canavar otu tohumu miktarındaki artış tüberkül sayısını artırmıştır. Canavar otu bulaşıklığı arttıkça domateste yaprak sayısı, sürgün uzunluğu, kök uzunluğu, sürgün çapı, klorofil içeriği, toplam yaş ve kuru ağırlığı, patlıcanda ise yaprak sayısı ve sürgün boyunun azaldığı tespit edilmiştir. Artan tohum sayısının tür içi rekabet açısından olumsuz bir etkiye sahip olmadığı da söylenebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Mavi çiçekli canavar otu, Parazitik bitki, Tohum, Sebze.

## Introduction

*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel (Syn: *Orobanchaceae* *ramosa* L.), belonging to the family *Orobanchaceae*, is one of the most problematic and destructive holoparasitic species in agricultural fields worldwide (Rubiales and Fernández-Aparicio, 2012; Habimana et al., 2014; Fernández-Aparicio et al., 2016). Serious yield and quality losses in host plants are caused by broomrape, for which there is no effective control method, including chemical control (Tepe, 2014; Fidan, 2023). Depending on environmental conditions, host susceptibility, invasion and intensity of infestation, it can cause yield losses up to 100% in cultivated plants. It has been reported that broomrape causes 50-100% yield loss in broad bean, 33% in tobacco, 33% in sunflower, 24% in carrot and 21-29% in tomato (Aksoy and Pekcan, 2014; Habimana et al., 2014; Fernández-Aparicio et al., 2016). The plant not only reduces the yield and quality of host plants, but also causes economic losses, thus posing a serious threat to food security in many countries of the world (Parker and Riches, 1993; Elzein and Kroschel, 2003; Demirbaş, 2011). The fruit consists of a 0.5-2 cm capsule and each capsule contains 1,000-5,000 seeds. One plant can produce 40-100 capsules (Strelyaeva, 1978; Perny, 1989; Joel et al. 2007). Individuals can produce more than 200.000 seeds (Lopez and Garcia, 1993), which can remain viable in the soil for 13 years or more (Cubero and Moreno, 1979). In a study, it was reported that only 0.003% of the *Orobanchaceae crenata* seed bank successfully attached to the roots of the host and 9% of these germinated. Approximately 43% of the germinated seeds are lost through various natural processes (dispersal, predation, decomposition) and therefore only 57% of the total number of seeds produced remain in the soil. As a result of this high seed production, the annual soil seed bank has more than tripled in eight years (Lopez and Garcia, 1993).

In addition to its distinctive features such as producing a lot of seeds, spreading over large areas by wind, water and other sources, the rapid increase in the cultivation areas of the broomrape hosts causes the problem to grow gradually (Ramaiah 1987; Parker, 1991; Rubiales et al., 2009). It is important to

understand the relationship between the parasite plant seeds and the host plant in order to determine the time to start the control and to understand in which phenological period the control will be effective. In this study, it was aimed to determine the effects of different amounts of broomrape seeds in the soil on the development of host plants in the context of host-parasite relationship. It is thought that the information obtained from this study will provide the basis for optimising integrated control programmes and for long-term planning to reduce the seed bank.

## Materials and Methods

Rio Grande tomato, Yalova Çarliston 341 pepper and Aydın Siyah 55 eggplant varieties were used in the study. *Phelipanche ramosa* (L.) seeds were collected from tomato growing areas in Van/Türkiye in 2019. The seeds used in the study were sterilized with 70% ethanol, then washed with sterile water and dried on blotting paper. The studies were carried out in the climate room and laboratory of the herbology in 2022.

The experiments were conducted in 2 litre pots containing sterile peat-perlite mixture at a ratio of 2:1. Only tomato, eggplant and pepper seeds were planting in the control groups. In the other groups, 250, 500, 1000, 2000 and 4000 broomrape seeds were mixed homogeneously to a depth of 8 cm in each pot before sowing the seeds (Grenz et al., 2008). It was established according to the random plots experimental design with four replications; two tomato, two pepper and one eggplant plants in each pot. Hoagland nutrient solution was applied to the seedlings after the first true leaves appeared. The plants were regularly supplied with water and Hoagland nutrient solution as needed. The experiment was established on 31.01.2022 and ended on 20.04.2022. The development parameters observed at the end of the study are as follows:

*Shoot and root length (cm):* At the end of the experiment, shoot length was determined by measuring the area from the root collar to the growing tip and root length was determined by measuring the

area from the root collar to the root tip.

**Shoot diameter (mm):** It was determined by measuring the 2 cm upper stem region of the root collar of the plants with a digital caliper.

**Number of leaves:** It was determined by counting all leaves on the plant when the experiment was completed.

**Chlorophyll content:** The amount of chlorophyll in the leaves was determined with SPAD meter (Minolta SPAD-502, Osaka, Japan) according to the method used by Birgin (2021) by measuring from the third and fourth leaves from top to bottom and averaging the values.

**Fresh and dry biomass of roots and shoot (g):** The method of (Kaçar, 1984) was used to determine the fresh and dry biomass of the plants. The fresh biomass of both shoot parts and roots were determined with an assay balance. The fresh shoot and roots were placed in paper bags and dried in drying cabinets at 70 °C for 48 hours and then weighed and the dry biomass were determined.

**Number of tubercles:** The number of tubercles formed as a result of the attachment of germinated broomrape seeds to the roots of the plants was determined by counting.

#### Statistical Analysis

The data obtained from the experiment were evaluated by using SPSS statistical package

programme according to the random plots experimental design at  $p < 0.05$  significance level. Differences between treatments were determined by 'Duncan's Multiple Range Test'.

## Results and Discussions

When the parameters obtained from this study are examined, the changes in tomato, the number of tubercles and the percentage change rate compared to the control are given in Tables 1 and 2. According to the results of statistical analyses, the differences between all parameters except shoot diameter were found significant. In addition, when the treatments were compared with the control, the changes in leaf number, root length, total dry biomass and chlorophyll content were in the same group. However, the decrease in shoot length was also reflected in the results of the analyses and especially the lowest and highest treatments were in different groups. In total fresh biomass, 250 seeds treatment was in a different group from all other treatments. There was an increase in the number of tubercles depending on the number of seeds. According to the results of statistical analysis, 4000 seeds application was in a different group. In tomato plant, increasing seed amount increased the number of tubercles and decreased the shoot length and total fresh biomass (Table 1).

Table 1. The effect of the number of broomrape seeds on tubercles and some morphological parameters in tomato

Number of seeds per pot	Number of tubercles	Number of leaves	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Shoot diameter (mm)	Total fresh biomass (g)	Total dry biomass (g)	Chlorophyll content (SPAD value)
Control (0)	0,0±0,0c	12,1±0,5a	80,3±1,1a	19,75±0,8a	5,32±0,3a	107,5±2,2a	12,2±0,4a	35,9±2,8a
250	4,2±0,4bc	9,8±0,9b	67,3±3,3b	15,75±0,4b	4,62±0,0a	94,0±4,6a	6,1±1,2b	28,3±0,5b
500	6,5±1,1bc	9,6±0,1b	58,8±4,3c	14,00±0,7b	4,91±0,1a	74,2±7,6b	6,1±0,5b	28,9±1,1b
1000	10,0±2,7b	8,7±0,4b	52,0±1,5cd	14,50±0,6b	4,72±0,1a	78,6±5,4b	6,8±0,4b	29,0±0,9b
2000	11,7±1,7ab	9,0±0,7b	53,6±1,9cd	16,50±1,8b	4,93±0,2a	73,5±3,6b	6,4±0,3b	29,0±0,9b
4000	19,0±5,5a	9,2±0,5b	48,5±0,9d	14,75±1,0b	4,56±0,1a	65,7±4,2b	6,7±0,8b	28,2±1,7b
Average	10,3±1,6	9,7±0,3	60,1±2,4	15,87±0,5	4,84±0,0	82,3±3,4	7,4±0,51	29,9±0,8

a, b, c: The difference between the means shown with different letters in the same column is statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Table 2. Rates of variation (%) of broomrape seed number on some morphological parameters in tomato compared to control

Number of seeds per pot	Number of leaves	Shoot length	Root length	Shoot diameter	Total fresh biomass	Total dry biomass	Chlorophyll content
250	-18,56	-16,18	-20,3	-13,16	-12,52	-49,55	-21,23
500	-20,63	-26,76	-29,1	-7,71	-31,01	-50,04	-19,51
1000	-27,81	-35,30	-26,6	-11,28	-26,84	-43,85	-19,23
2000	-25,74	-33,29	-16,5	-7,33	-31,60	-47,11	-19,37
4000	-23,68	-39,66	-25,3	-14,29	-38,87	-45,07	-21,64

The changes in the parameters of eggplant plants are given in Table 3 and Table 4. According to the results of statistical analyses, the differences between the treatments in root length and chlorophyll content were found insignificant, while the differences between the other parameters were found significant.

The increase in seed amount had a negative effect on the number of leaves, but there was no difference between 1000, 2000 and 4000 groups. This result was also reflected in shoot length, total fresh and dry biomass. Similar results were observed in the number of tubercles.

Table 3. The effect of the number of broomrape seeds on tubercles and some morphological parameters in eggplant

Number of seeds per pot	Number of tubercles	Number of leaves	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Shoot diameter (mm)	Total fresh biomass (g)	Total dry biomass (g)	Chlorophyll content (SPAD value)
Control	0,0±0,0c	16,0±1,8a	58,0±2,4a	18,7±1,3a	7,4±0,7a	139,6±15,8ab	18,1±3,4ab	36,6±3,06s
250	4,7±0,8b	13,5±0,6ab	49,5±2,9ab	20,2±1,7a	7,4±0,1a	146,5±7,3a	29,7±3,7a	39,2±0,4
500	6,5±0,8b	11,5±0,5bc	48,0±4,4b	18,2±2,1a	6,7±0,4a	114,2±7,7b	17,8±2,1ab	37,2±0,8
1000	7,0±0,9b	10,0±0,0c	37,2±2,6c	17,7±1,3a	7,1±0,4a	75,7±11,6c	14,6±3,2b	35,4±2,0
2000	11,2±2,0a	9,7±0,2c	41,2±1,3bc	16,2±1,3a	6,3±0,2a	68,0±3,9c	13,1±3,6b	33,6±1,4
4000	11,7±1,5a	9,0±0,7c	35,2±3,3c	14,0±1,7a	4,5±0,2b	47,9±2,9c	8,8±1,0c	33,2±1,5
Average	8,2±0,82	11,6±0,5	44,8±1,9	17,5±0,7	6,5±0,2	96,5±8,0	16,5±1,7	35,9±0,7

a, b, c: The difference between the means shown with different letters in the same column is statistically significant ( $p < 0.05$ ).

Table 4. Rates of variation (%) of broomrape seed number on some morphological parameters in eggplant compared to control

Number of seeds per pot	Number of leaves	Shoot length	Root length	Shoot diameter	Total fresh biomass	Total dry biomass	Chlorophyll content
250	-15,63	-14,66	8,00	0,00	4,98	63,76	7,18
500	-28,13	-17,24	-2,67	-9,58	-18,13	-1,98	1,72
1000	-37,50	-35,78	-5,33	-4,18	-45,71	-19,32	-3,33
2000	-39,06	-28,88	-13,33	-14,84	-51,24	-27,36	-8,19
4000	-43,75	-39,22	-25,33	-38,19	-65,68	-51,37	-9,20

Pepper, which is outside the host range of broomrape, did not exhibit the formation of tubercles on its roots and remained uninfected when exposed to varying doses of the plant's seeds. For this reason, pepper was excluded from the evaluation. In a survey study conducted by Yergin Özkan et al. (2024) in vegetable cultivation areas, although *P. ramosa* was observed on pepper plants, when the root region was examined in detail, it was determined that the attachment was not to the roots of the pepper plants but to parasitize different weed species in the field. In addition, there is no record that pepper is the host of the broomrape weed in Türkiye. However, in a study conducted in the Golan Heights, *O. aegyptiaca* was reported to parasitize pepper (Hershenhorn et al., 1996).

In this study in which the effect of increasing seed amount of broomrape on the development parameters of tomato, pepper and eggplant plants was investigated, the number of tubercles in tomato and eggplant increased up to a certain rate. In particular, shoot length and total fresh and dry biomass decreased. It is known that broomrape negatively affects the total biomass of plants because it obtains water and nutrients from host plants. It can

be said that these biomass losses in plants are a result of the competition between broomrape and cultivated plants (Faradonbeh et al., 2020). In addition, broomrape infestation disrupts the hormonal balance of the host plant, which negatively affects the opening and closing of stomata and reduces the biomass of plants (Frost et al., 1997; Constantine et al., 2013). In studies on *O. crenata*, it has been stated that the number of tubercles is directly related to the number of seeds in the soil (Manschadi et al., 1996; 2001). In another study with this species, which is a problem in legumes, it was observed that the amount of seed banks and tubercles had a hyperbolic function (Grenz et al., 2005). In this study, it can be explained that the increase in the number of tubercles up to a certain level is related to intraspecific competition resulting from the limited carrying capacity of the host which provides stabilization in the plant at high infestation levels.

In a similar study conducted by Grenz et al. (2008) in sunflower, 50, 200 and 1600 *O. cumana* seeds per kilogram were mixed into the soil. The increase in the seed amount of *O. cumana* had a negative effect on yield. In parallel with the increase in the number of seeds in the soil, it was determined that the

attachment also increased. The results obtained from the study were similar to those of the present study and the number of leaves was the most affected plant part in both studies. When these results are evaluated together with the chlorophyll results, it can be said that the parasitic plant does not significantly affect photosynthesis but damages the host with strong assimilation. Similarly, as stated by Fidan (2023), it was understood that the broomrape infestation affected mostly the lower leaves of the plant and there were no great differences in chlorophyll content with the transport of mobile elements to the upper parts of the plant.

Ecological theory predicts that resource limitations determine the competitive environment between organisms. For example, food supply strongly influences infection dynamics and interactions within and between parasite species. Competition between parasite species, especially for hosts, is expected to lead to changes in the level of virulence. This is an extremely important factor for the individual performance of the parasitic plant. In a study by Nabity et al. (2021), results supporting this information were obtained in the species *Phoradendron californicum* Nutt., known as American mistletoe, and it was found that virulence decreased as intraspecific competition increased. In addition, it was stated that even changes in the genotypes of the same species affect the attachment and virulence differently. Similarly, many studies have reported that these differences may be due to the amount of strigolactone produced by host plants (El-Halmouch and Thalouam, 2006; Lopez-Ráez et al., 2008; Awad et al., 2006; Xie et al., 2007).

## Conclusions

As a result, it can be determined that seed density in the soil and intraspecific competition are found to be important for the number of tubercles or attachment of broomrape. Therefore, it can be said that shoot length, number of leaves and total biomass are the most important affected parameters. High seed number increases the success of the plant's spread, but also makes parasite-host plant competition more important. It is important to determine the level of parasitism under these conditions in order to provide a new approach in the control of broomrape. In addition, the fact that this species does not parasitize pepper plants belonging to

the Solanaceae family can be considered as an advantage in breeding studies and crop rotation practices in terms of resistance.

**Conflict of Interest:** The authors declare that there is no conflict of interest between them.

## Author contributions

The authors declare that they contributed equally to the article.

## References

- Aksoy, E., & Pekcan, V. (2014). Canavar otları (*Orobanche* spp., *Phelipanche* spp.) ve Mücadelesi. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı Yayınları, Ankara, 80.
- Awad, A. A., Sato, D., Kusumoto, D., Kamioka, H., Takeuchi, Y., & Yoneyama, K. 2006. Characterization of strigolactones, germination stimulants for the root parasitic plants *Striga* and *Orobanche*, produced by maize, millet and sorghum. *Plant Growth Regul.* 48:221-7.
- Birgin, Ö. (2021). Effects of Foliar Application of Calcium on Tomato Plant Under Drought Stress in Greenhouse Conditions (Master's thesis). Şırnak University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Şırnak, Türkiye
- Cubero, J.I., & Moreno, M.T. 1979. Agronomic control and sources of resistance in *Vicia faba* to *Orobanche* sp. p. 41–80. In LA. Bond et al. (ed.) Some current research on *Vicia faba* in Western Europe. Commission of the European Communities. Luxemburg.
- Constantine, J., Sibuga, P., Rodenburg, J., Kayeke, J., & Kabiri, S. (2013). Effects of varying densities of *Striga asiatica* and *Rhamphicarpa fistulosa* on growth and physiology of rice. *African Crop Science Conference Proceedings*. (Vol. 11) 87-96.
- Demirbaş, S. (2011). Bazı ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) varyetelerinde *orobanche cumana* Wallr. nın süperoksit dismütaz (SOD; E.C.1.15.1.1) ve peroksidaz (POD; E.C.1.11.1.7) aktiviteleri üzerine etkilerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, Türkiye.
- El-Halmouch, Y., & Thalouam P. 2006. Effect of root exudates from different tomato genotypes on broomrape (*O. aegyptiaca*) seed germination and tubercle development. *Crop Prot.* 25:501-7.
- Elzein, A., & Kroschel, J. (2003). Progress on management of parasitic weeds. *FAO Plant Production and*

- Protection Paper, 109-143.
- Faradonbeh, H., Nayerehalsadat H., Darbandi, E. I., Karimmojeni, H., & Nezami, A. (2020). Physiological and growth responses of cucumber (*Cucumis sativus* L.) genotypes to Egyptian broomrape (*Phelipanche aegyptiaca* (Pers.) Pomel) parasitism. *Acta Physiologiae Plantarum*, 42, 1-15.
- Fernández-Aparicio, M., Flores, F., & Rubiales, D. (2016). The effect of *Orobanche crenata* infection severity in *faba bean*, field pea, and grass pea productivity. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1409.
- Fidan, E., 2023. Bazı Mikroorganizma ve Biyolojik Preparatların Domateste (*Solanum lycopersicum* L.) Mavi Çiçekli Canavar Otu (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) Üzerine Etkisi. (Doktora tezi). Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Van, Türkiye.
- Frost, D., Gurney, A., Press, M., & Scholes, J. (1997). *Striga hermonthica* reduces photosynthesis in sorghum: the importance of stomatal limitations and a potential role for ABA? *Plant, Cell & Environment*, 20, 483-492.
- Grenz, J.H., Manschadi, AM., DeVoi, P., Meinke, H., & Sauerborn, J. (2005) Assessing strategies for *Orobanche* sp. control using a combined seed bank and competition model. *Agron J* 97:1551–1559.
- Grenz, J. H., Iştoç, V. A., & Manschadi, A. M., Sauerborn, J. (2008). Interactions of sunflower (*Helianthus annuus*) and sunflower broomrape (*Orobanche cumana*) as affected by sowing date, resource supply and infestation level. *Field Crops Research*, 107(2), 170-179.
- Habimana, S., Nduwumuremyi, A., & Chinama R, J. (2014). Management of *Orobanche* in field crops: A review. *Journal of soil science and plant nutrition*, 14, 43-62.
- Hall, J. A., Peirson, D., Ghosh, S., Glick, B. (1996). Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12– 2. *Israel Journal of Plant Sciences*, 44, 37-42.
- Hershenthorn, J., Goldwasser, Y., Plakhine, D., Herzlinger, G., Golan, S., Russo, R., & Kleifeld, Y. (1996). Role of pepper (*Capsicum annuum*) as a trap and catch crop for control of *Orobanche aegyptiaca* and *O. cernua*. *Weed Science*, 44(4), 948-951.
- Joel, D.M, Hershenthorn, Y., Eizenberg, H., Aly, R., Ejeta, G., Rich, P.J., Ransom, J.K, Sauerborn, J., & Rubiales, D. (2007) Biology and management of weedy root parasites. In: Janick J (ed) *Horticultural reviews*, vol 33. Wiley, Hoboken, NJ, pp 267–349.
- Kaçar, B., 1984. Bitki Besleme Uygulama Kılavuzu, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 900. Uygulama Kılavuzu, 214. Ankara. 140s.
- Lopez-Ráez, JA., Matusova, R., Cardoso, C., Jamil, M., Charnikhova, T., Kohlen, W., Ruyter-Spira, C., Verstappen, F., & Bouwmeester, H. 2008. Stigolactones: ecological significance and use as a target for parasitic plant control. *Pest. Manag. Sci.* 65:471-7.
- Lopez-Granados, F., & Garcia-Torres, L. (1993) Population dynamics of crenate broomrape (*Orobanche crenata*) in faba bean (*Vicia faba*). *Weed Sci* 41:563–567.
- Manschadi, A. M., Kroschel, J., & Sauerborn, J. (1996). Dry matter production and partitioning in the host-parasite association *Vicia faba*–*Orobanche crenata*. *J. Appl. Bot.* 70, 224–229.
- Manschadi, A. M., Sauerborn, J., & Stützel, H. (2001). Quantitative aspects of *Orobanche crenata* infestation in faba beans as affected by abiotic factors and parasite soil seedbank. *Weed research*, 41(4), 311-324.
- Nability, P. D., Barron-Gafford, G. A., & Whiteman, N. K. (2021). Intraspecific competition for host resources in a parasite. *Current Biology*, 31(6), 1344-1350.
- Özkan, R. Y., Tepe, I., & Fidan, E. (2024). New Record in Summer Squash and Infestation of Branched Broomrape (*Phelipanche ramosa* (L.) Pomel) in Vegetable Areas in Van/Türkiye. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 34(2), 192-198.
- Tepe, (2014). *Yabancı Otlarla Mücadele*. Sidas Medya Yayınevi. ISBN: 978-605-5267-17-9. İzmir.
- Parker, C (1991) Protection of crops against parasitic weeds. *Crop Prot* 10:6–22.
- Parker, C., & Riches, C.R. (1993) *Parasitic weeds of the world: biology and control*. CAB International, Wallingford.
- Perny, A. (1989). Branched broomrape, a new weed of rape. *Bulletin CETIOM*. 103, 17.
- Ramaiah, K.V. (1987) Control of *Striga* and *Orobanche* species – a review. In: Weber HC, Forstreuter W (eds) *Proceedings of the 4th ISPPF*, Marburg, Germany, pp 637–664
- Rubiales, D., & Fernandez-Aparicio., M. (2012) Innovations in parasitic weeds management in legume crops. *Agron Sustain Dev*, 32:433–449.
- Rubiales, D., Fernández-Aparicio, M., Wegmann, K., & Joel, D. (2009). Revisiting strategies for reducing the seedbank of *Orobanche* and *Phelipanche* spp. *Weed Research*, 49, 23-33.
- Strelyaeva, N. (1978). The germination of broomrape seeds under artificial conditions. *Sel'skolhozyaistvennaya Biologia*, 3, 462-463.
- Xie, X., Kusumoto, D., Takeuchi, Y., Yoneyama, K., Yamada, Y., & Yoneyama, K. (2007). 2'-Epi-orobanchol and solanacol, two unique strigolactones, germination stimulants for root parasitic weeds, produced by tobacco. *J. Agric. Food Chem.* 55:8067-72.

# Bazı bitki uçucu yağ ve karışımlarının mandarinde *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler 1832'nin neden olduğu kahverengi leke hastalığı üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi

## Determination of antifungal effects of some plant essential oils and their mixtures on brown spot disease caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler 1832 on mandarin

Mehmet ATAY<sup>1\*</sup>, Meltem AVAN<sup>2</sup>, Memet İNAN<sup>3</sup>

<sup>1-2</sup> Adıyaman Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, 02450 Kahta-ADİYAMAN

<sup>3</sup> Adıyaman Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, 02450 Kahta-ADİYAMAN

<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0001-5751-4764>; <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-2939-8177>; <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0001-8870-5029>

### To cite this article:

Atay, M., Avan M. & İnan, M. (2024). Bazı bitki uçucu yağ ve karışımlarının mandarinde *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler 1832'nin neden olduğu kahverengi leke hastalığı üzerine antifungal etkilerinin belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 570-583

DOI: 10.29050/harranziraat.1556160

### \*Address for Correspondence:

Mehmet ATAY  
e-mail:  
matay@adiyaman.edu.tr

### Received Date:

25.09.2024

### Accepted Date:

19.11.2024

© Copyright 2018 by Harran University  
Faculty of Agriculture. Available on-line  
at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ÖZ

Dünya çapında önemli bir fitopatojen fungus türü olan *Alternaria alternata*, çok sayıda bitki türünde gerek yetiştiricilik sırasında gerekse hasat sonrası dönemde ciddi ürün kayıplarına neden olan bir fungustur. Farklı turuncgil türlerinin yaprak ve meyvelerinde kahverengi leke hastalığına neden olan bu patojen, mandarin (*Citrus reticulata*) meyveleri üzerinde siyah veya merkezi gri renkte çürüklükler meydana getirir. Bu çalışmada, iki kekik türü (*Thymbra spicata* L. ve *Origanum onites* L.) ve adaçayı (*Salvia officinalis* L.) uçucu yağlarının tekli ve ikili kombinasyonlar halindeki karışımlarının farklı dozları, buhar fazında ve *in vitro* şartlarda mandarin meyvesinden izole edilen patojen *A. alternata*'ya karşı antifungal etkileri araştırılmıştır. Yağların tekli olarak kullanımı durumunda fungal izolata karşı en düşük uygulama dozundaki (MIC) en yüksek antifungal etkiyi *T. spicata* (4.0 µl petri<sup>-1</sup>) uçucu yağı göstermiştir. Yağların karışımlar şeklinde kullanılmaları sonrası en yüksek engelleme ise *T. spicata* + *O. onites* ve *T. spicata* + *S. officinalis* (8.0 µl petri<sup>-1</sup>) uçucu yağ karışımlarında saptanmıştır. Sonuç olarak, çalışmada kullanılan bitki uçucu yağları ve karışımları doza bağlı bir şekilde *A. alternata* izolatına karşı antifungal etkiler göstermişlerdir. Özellikle mandarin meyvelerinin depolanarak muhafaza edilebilen bir ürün olduğu göz önünde bulundurulduğunda, farklı bitkilerden elde edilmiş bu uçucu yağların, depolanmış ürünlerde fumigant olarak ümitvar olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** *Alternaria alternata*, *Salvia officinalis* L., Sinerjistik etki, *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L.

### ABSTRACT

*Alternaria alternata*, an important phytopathogenic fungus worldwide, is a fungus that causes serious crop losses in many plant species both during cultivation and post-harvest period. This pathogen, which causes brown spot disease on leaves and fruits of different citrus species, produces black or central gray rots on mandarin (*Citrus reticulata*) fruits. In this study, different doses of mixtures of two thyme species (*Thymbra spicata* L. and *Origanum onites* L.) and sage (*Salvia officinalis* L.) essential oils in single and double combinations were investigated in volatile phase and *in vitro* conditions for their antifungal effects against *A. alternata*, isolated from mandarin fruits. In case of single use of oils, *T. spicata* (4.0 µl petri<sup>-1</sup>) essential oil showed the highest antifungal effect against fungal isolates at minimum inhibitory concentration (MIC). After using the oils as mixtures, the highest inhibition was determined in the essential oil mixtures of *T. vulgaris* + *O. onites* and *T. spicata* + *S. officinalis* (8.0 µl petri<sup>-1</sup>). As a result, the plant essential oils and their mixtures used in the study showed antifungal effects against *A. alternata* isolate in a dose-dependent manner. Especially considering that mandarin fruits are a

product that is stored and preserved, these essential oils obtained from different plants can be easily applied as fumigants in stored product.

**Key Words:** *Alternaria alternata*, *Salvia officinalis* L., Synergistic effect, *Origanum onites* L., *Thymbra spicata* L.

## Giriş

Portakal, limon, mandarin ve greycitrusun da içerisinde dâhil olduğu turuncgiller, dünya çapında ekonomik açıdan yetiştiriciliği yapılan önemli bitki gruplarından biridir (Scora, 1975). Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) taze tüketimde ve meyve işlemede kullanılmak üzere yetiştirilen, her mevsim yeşil yapraklara sahip olan ve dünyanın tropik/subtropik bölgelerde yetiştirilen önemli turuncgillerden birisidir. Üretim bakımından günümüzde önemli bir konumda yer alan bu bitkiden 2022 yılında dünya çapında 3.3 milyon hektarlık alandan yaklaşık 44 milyon ton civarında meyve elde edilmiştir. Önemli bir turuncgil üreticisi ülke olan Türkiye’de ise aynı yıl yaklaşık 68 bin hektar alanda 1.9 milyon ton civarında mandarin üretimi gerçekleştirilmiştir (FAO, 2024).

Turuncgillerin meyveleri lezzetli olduğu için insanlar tarafından beğenilerek tüketilmektedir. Lezzetlerinin yanı sıra insan sağlığına faydalı doğal antioksidanlar açısından zengin olmaları (Zhang ve ark., 2014; Zou ve ark., 2016), meyve sularındaki yüksek sitrik asit, C vitamini, flavonoidler ve mineral içerikleri nedeniyle de bu meyvelerin günümüzde insan beslenmesinde önemli bir yer almasına olanak sağlamaktadır (Silalahi, 2002; He ve ark., 2012; Wang ve ark., 2017).

Fitopatogen funguslar; üretim alanlarında, seralarda ve hasat sonrası depolama aşamasında farklı bitkilerde çok sayıda önemli hastalığa neden olan patojenik etmenlerdir. Çok sayıda fungus türünün tehdidi altında olan kültür bitkilerinin önemli hastalık etmenlerinden biri de, çeşitli patojenik, saprofitik ve endofitik türlerle dünya çapına yayılmış *Alternaria* cinsine ait fitopatogen türleridir (Dang ve ark., 2015; Garganese ve ark., 2016). Nitekim cinse ait farklı türler, ekonomik açıdan önemli çok sayıda bitki türünde oldukça yıkıcı hastalıklara neden olabilmektedir (Felipini ve ark., 2023; Han ve ark., 2023). Geniş konukçu dizisine sahip olması, gerek hasat öncesi gerekse de hasat sonrası dönemde konukçu bitkilerin

çeşitli kısımlarında meydana getirdiği hastalıklar ve buna bağlı şekilde oluşan ciddi ürün kayıplarından ötürü özellikle bu cinse ait bir tür olan *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler 1832, fitopatolojik bakımdan oldukça önem taşımaktadır. Konukçu bitki türüne göre meydana getirdiği hastalıklar için farklı isimler kullanılmakla birlikte bu etmenin turuncgillerde oluşturduğu hastalıklar için ‘kahverengi leke’ ve ‘siyah çürüklük’ isimlendirmeleri kullanılmaktadır (Vega ve Dewdney, 2014; Garganese ve ark., 2018; Ghooshkhaneh ve ark., 2022; Güney ve ark., 2023). Önemli bir turuncgil hastalığı olan kahverengi leke hastalığı, tropik ve subtropik iklim koşullarına sahip farklı coğrafi özelliklerin gözlendiği çok sayıdaki bölge ve ülkede rapor edilmiştir (Vicent ve ark., 2000; Golmohammadi ve Rahimian, 2004; Elena, 2006; Bassimba ve ark., 2014; De-Miguel ve ark., 2019; Arlotta ve ark., 2020).

*A. alternata*’nın neden olduğu hastalıklar çoğunlukla kimyasal kullanımı ile kontrol altına alınabilmektedir (Garganese ve ark., 2019). Ancak kimyasalların kullanımı konusunda insanların bilinç kazanması, aşırı fungusit kullanımı sonucu fungusitlere dirençli patojenlerin ortaya çıkması ve insan/çevre sağlığı üzerinde meydana getirdikleri olumsuz etkilerinden ötürü günümüzde kimyasal fungusitlerin kullanımı konusunda endişeler hızla artmıştır (Morales ve ark. 2010; Zhou ve ark. 2018). Bu doğrultuda kimyasallara alternatif mücadele yöntemleri araştırılmakta olup çeşitli bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların, hastalık yönetiminde kullanılabilecek önemli doğal ürünlerden biri olduğu bildirilmiştir (Villaverde ve ark. 2014; Raveau ve ark., 2020; Atay ve Soylu, 2023). Uçucu yağlar çok sayıda bitki türünde doğal olarak bulunurlar ve bitkilerin farklı kısımlarından elde edilebilirler. Çeşitli bitki uçucu yağlarının fitopatogenler dâhil olmak üzere farklı mikroorganizma türlerine karşı önemli bir kontrol etkisine sahip oldukları, biyokimyasal savunma yollarını aktive ettikleri ve bitkilerde direnç



mekanizmalarını artırabilme yeteneğine sahip oldukları tespit edilmiştir (González-Lamothe ve ark. 2009; Perina ve ark., 2019).

Bu çalışmada, mandarin ve diğer turunçgil bitkilerinde hasat öncesi ve sonrası dönemde önemli bir patojen fungus türü olan *A. alternaria*'ya karşı, farklı bitki türlerinden elde edilmiş uçucu yağların tekli ve ikili karışımlarının *in vitro* koşullardaki antifungal etkileri araştırılmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### *Denemelerde kullanılan fungal izolat, uçucu yağlar ve diğer malzemeler*

Çalışmanın fungal izolatını oluşturan *A. alternata*, Adıyaman ilinin merkez ilçesindeki yerel pazar ve marketlerde 2023 yılında yapılan survey çalışmaları sonrası elde edilmiştir. Çalışmada kullanılan uçucu yağlar, Kâhta Meslek Yüksekokulu deneme ve uygulama alanında bulunan *T. spicata* (karabaş kekik), *O. onites* (İzmir kekiği) ve *S. officinalis* (tıbbi adaçayı) bitkilerinden elde edilmiştir.

Fungal etmenin izolasyonu, tanısı (Atay ve Soylu, 2023) ve uçucu yağların antifungal etkilerinin belirlendiği denemelerde kullanılan Patates Dekstroz Agar (PDA) besi yeri, hazır ticari olarak (Merck, Darmstad, Germany) satın alınmıştır. Çalışmanın diğer materyallerini ise Fitoklinik Laboratuvarı'nda bulunan alet-ekipmanlar, çeşitli laboratuvar malzemeleri ve bazı kimyasal ürünler oluşturmuştur.

### *Fungal izolatın izolasyonu ve patojenisitesinin belirlenmesi*

Denemede kullanılan fungal izolatın patojenisite durumunun belirlenmesi amacıyla sağlıklı ve olgunlaşmış taze mandarin meyveleri (Nova çeşidi) kullanılmış olup izolatın mandarin meyvelerinde patojen olup olmadığı belirlenmiştir. Bu amaçla, önce misel deliciyle meyve yüzeyinde daire şeklinde yaralar açılmış ve ardından PDA besi ortamı üzerinde geliştirilmiş saf fungus kültüründen 6 mm çapındaki misel diskleri alınarak bu yara yerlerine yerleştirilmiş ve üzeri parafilm ile sarılmıştır. Bu şekilde fungus

inokulasyonu yapılan meyveler steril saklama kaplarına alınmış ve bu kaplar  $25 \pm 2$  °C'de iklim kabininde (12 h/12h fotoperiyotta) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda meyvelerde oluşmuş hastalık belirtileri not edilmiş ve inokulasyon çevresinde meydana gelen hastalık gelişmelerinden yeniden izolasyon yapılarak re-izolatlar elde edilmiştir. PDA üzerinde gelişen re-izolatlar aşağıda izah edilen teşhis yöntemleri uygulanarak bunlar orijinal izolatla karşılaştırılmış ve bu şekilde izolatın mandarin meyvelerinde patojen olup olmadığı belirlenmiştir.

### *Fungal izolatın mandarin meyvelerinden izolasyonu ve moleküler tanısının yapılması*

Çalışmada kullanılan fungal izolat *A. alternata*, Adıyaman ilinin market ve yerel pazarlarından tesadüfen seçilmiş hastalık belirtisi gösteren mandarin meyvelerinden PDA besi yeri üzerinde yapılan izolasyon çalışmaları sonrası elde edilmiştir. Bu amaçla seçilen meyvelerin hastalık belirtisi gösteren dokularından sırasıyla; yaklaşık 0.5x0.5 mm kesitler alınarak (hastalıklı ve sağlıklı kısımları içerecek şekilde) %2 sodyum hipoklorit çözeltisi ile yüzey sterilizasyonları yapılmış, bu kesitler içerisinde  $50 \mu\text{g ml}^{-1}$  streptomisin sülfat antibiyotik içeren PDA ortamına ekilmiş ve  $25 \pm 2$  °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrasında petrielerde gelişmiş olan fungus misellerden saflaştırmalar yapılarak saf izolatlar elde edilmiş ve bu izolatlar ileriki denemelerde kullanılmak üzere buzdolabında  $+4$  °C'de muhafaza edilmiştir.

İzolat, türe özgü PCR ve dizi analizi kullanılarak moleküler tanıya tabi tutulmuştur. DNA izolasyonu için misel elde etmek amacıyla kültürler PDA üzerinde  $25$  °C'de 12 gün boyunca geliştirilerek ve miseller CTAB yöntemi kullanılarak hasat edilmiştir. DNA ekstraksiyonu Lee ve Taylor (1990) tarafından tarif edildiği şekilde gerçekleştirilmiş ve stok DNA hazırlanmıştır. Elde edilen fungal DNA'nın PCR amplifikasyonu White ve ark. (1990) ITS (ITS-AB28/ITS-TW81) primer seti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 8µl LUNA (NEB) ana karışımı (reaksiyon tamponu, MgCl<sub>2</sub>, dNTP'ler, enzimler ve

su içeren) eklenerek toplam 10µl reaksiyon hacmi hazırlanmış, reaksiyon karışımına ileri ve geri primerlerin her birinden 0,5µl (10mMol) eklenmiş ve son olarak reaksiyonu tamamlamak için 1µl ekstrakte edilmiş DNA eklenmiştir. PCR termodöngü koşulları, 95 °C'de 1 dakika bekletme ve ardından 95 °C'de 10 saniye ve 57 °C'de 30 saniye olmak üzere 40 döngü şeklinde üretim otoritesinin tavsiyesine göre ayarlanmıştır. 1 × TBE agarozun %1,5'i hazırlanmış ve her bir numuneden 4µl her bir kuyucuğa yüklenmiş ve 1 saat boyunca 90 voltta çalıştırılmıştır. Fungal ITS (ITS: nükleer ribozomal dâhili transkripsiyonlu ara bölge) bölgesinin beklenen amplikon boyutu

gözlemlendikten sonra, elde edilen PCR ürünleri dizi analizi için hazırlanmıştır. PCR ürünleri PCR saflaştırma kiti (QIAquick PCR Purification Kit, Qiagen) kullanılarak saflaştırılmış ve dizileme için Aquatayf Biyoteknoloji Laboratuvarlarına gönderilmiştir. Ham sekanslama verileri Geneious Genetic analyzer yazılımı (Biomatters Ltd, Yeni Zelanda) kullanılarak işlenmiştir. Veriler <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> adresi üzerinden BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) analizi yapmak için kullanılmış ve BLASTn sonuçlarına göre türler belirlenmiştir. Her bir izolattan elde edilen diziler GenBank'a kaydedilmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. PCR işlemi amacıyla kullanılan primerler ve bunların gen dizilimleri  
Table 1. Primers used for PCR process and their gene sequences

Bağlanma Bölgesi	Primer İsmi	DNA Uzunluğu	Gen Dizilimi (5'→3') Q- Bank
Internal	ITS-AB28	550-650bp	5'- ATATGCTTAAGTTCAGCGGGT-3'
Transcribed Spacers (ITS)	ITS-TW81		5'- GTTCCGTAGGTGAACCTGC-3'

#### Uçucu yağların elde edilmesi

Uçucu yağ elde etmek amacıyla, *T. spicata*, *O. onites* ve *S. officinalis* bitkileri, tam çiçeklendiği dönemlerde hasat edilmiş, toplanan bitkiler oda sıcaklığında ve gölge ortamda kurumaya bırakılmıştır. Kurutma işleminden sonra, yaprak sap ayrımı yapıp, 25 g kuru bitki örneğindeki (yaprak + çiçek) uçucu yağ oranları, Neo-clevenger cihazında su buharı distilasyonu yöntemine göre, 3 saat boyunca kaynatılmış, çıkan uçucu yağlar volumetrik olarak ölçülmüş ve sonuçlar yüzdeye (%) çevrilmiştir. Buna göre, *T. spicata* türünde % 3.32, *O. onites* türünde % 4.09, *S. officinalis* türünde % 1.83 oranında uçucu yağ olduğu tespit edilmiştir. 1.5 ml'lik vida kapaklı vial şişelere alınan uçucu yağlar, uygulama zamanına kadar buzdolabında +4 °C'de muhafaza altına alınmıştır (Wichtl, 1971; Avcı ve İnan, 2020).

#### Uçucu yağ ve karışımlarının antifungal etkilerinin belirlenmesi

Çalışmada kullanılan uçucu yağ ve karışımlarının *A. alternata*'nın misel gelişimi üzerine olan antifungal etkileri, in vitro şartlarda ve içerisinde PDA besi ortamı bulunan 90 mm

çapındaki cam petri kaplarında araştırılmıştır. Uçucu yağlar; tek başlarına veya iki yağın eşit miktarda karıştırılması suretiyle karışımlar şeklinde, farklı uygulama dozlarında (2.0-64 µl petri<sup>-1</sup>) fungusa karşı uygulanmışlardır. Denemeler öncesinde kullanılan tüm cam petriler etüvde 160 °C'de 2 saat, besi ortamı ise otoklavda 121 °C'de 15 dk. süre ile steril edilmiştir (Türkmen, 2015; Kara ve ark., 2022).

Denemelerde, önce taze fungus kültürünün 6 mm çapındaki misel diskleri, içerisinde 20 ml PDA besi yeri dökülmüş petrilerin merkezine ve miselli taraf besi yeri ile temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. Daha sonra, bu petrilerin üst kapağının iç yüzeyinin merkezine bırakılan 1 cm çapındaki steril filtre kağıdına, mikro pipet ile uçucu yağ ve karışımlarının farklı uygulama konsantrasyonları emdirilmiştir. Uçucu yağ uygulaması yapıldıktan sonra yağların petriden uzaklaşmasını önlemek için özellikle bu aşama oldukça seri bir şekilde tamamlanmış ve yağlar filtre kâğıdına emdirildikten hemen sonra hızlı bir şekilde petri kapları parafilmle 3 kat sarılmıştır. Tüm işlemler sonrası petriler üst kapakları altta kalacak şekilde ters çevrilmiş ve 25±2 °C'de

inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol amacıyla kullanılacak petrilere ise benzer şekilde fungus misel diskleri yerleştirilmiş ancak filtre kağıdına uçucu yağ yerine sadece steril saf su emdirilmiştir. Kontrol petrilindeki misel gelişimi petri yüzeyini tümüyle kapladığında deneme sonlandırılmış ve uçucu yağ uygulaması yapılan tüm petrilere meydana gelen misel gelişimlerinin çapları ölçülerek veriler değerlendirilmiştir. Her bir uçucu yağ ve uçucu yağ karışımı için farklı dozlardaki engelleme oranları ise aşağıda yer alan (%) Abbott formülüne göre belirlenmiştir (Abbott, 1925).

$$\text{Engelleme (\%)} = [(KMG-UMG)/KMG] \times 100$$

KMG = Kontrol petrilere yüzeyinde meydana gelen misel gelişim (mm)

UMG = Uygulama petrilere yüzeyinde meydana gelen misel gelişim (mm)

*Uçucu yağ ve karışımlarının fungisidal ve fungistatik etkilerinin belirlenmesi*

Uçucu yağ ve karışımlarının, %100 engelleme görülen dozlarında meydana getirdikleri antifungal etkinin fungisidal veya fungistatik özellikte olup olmadığını belirlemek amacıyla, denemeler sonuçlandıktan sonra uçucu yağ uygulanmış petrilere yerleştirilmiş misel diskleri alınarak bunlar herhangi bir uygulama yapılmamış yeni PDA besi ortamı içeren petrilere aktarılmış ve 25±2 °C'de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Misel diskleri yeniden aktarıldıkları petri ortamı üzerinde inkübasyon sonrası herhangi bir gelişime meydana getirememişse uçucu yağın oluşturduğu antifungal etki fungisidal (fungusu tamamen öldüren), ancak misel gelişimi tekrardan başlamış ise bu etki fungistatik (fungusu geçici olarak baskılayan) olarak değerlendirilmiştir.

*Uçucu yağ ve karışımlarının fungal izolatın hif ve konidi morfolojisinde meydana getirdikleri değişimlerin belirlenmesi*

Denemede kullanılan uçucu yağ ve karışımlarının fungal izolat *A. alternata*'nın konidi ve hiflerinin morfolojisinde meydana getirdikleri

değişimler ışık mikroskobu kullanılarak gözlenmiştir. Bu amaçla fungal izolatın alınan diskler PDA ortamına aktarılmış ve herhangi bir uçucu yağ veya karışımı uygulanmaksızın 3 gün süreyle 25±2 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası fungus koloni çapı yaklaşık 20-25 mm boya eriştikten bu petrilere her bir uçucu yağ ve karışımının MIC değerleri uygulanmış ve petrilere parafilmle sarıldıktan sonra 4 gün süreyle tekrardan inkübasyona bırakılmıştır. Denemede kontrol petrilere ise herhangi bir uçucu yağ uygulanmamıştır. İnkübasyon sonrasında fungusun miselyumundan preparatlar hazırlanarak bunlar ışık mikroskobu altına 400 büyütmede incelenmiş ve uçucu yağların hif ve konidilerde morfolojilerinde meydana getirdikleri değişimler, kontrol petrilindeki hif ve konidi gelişim durumlarına kıyaslanarak incelenmiştir.

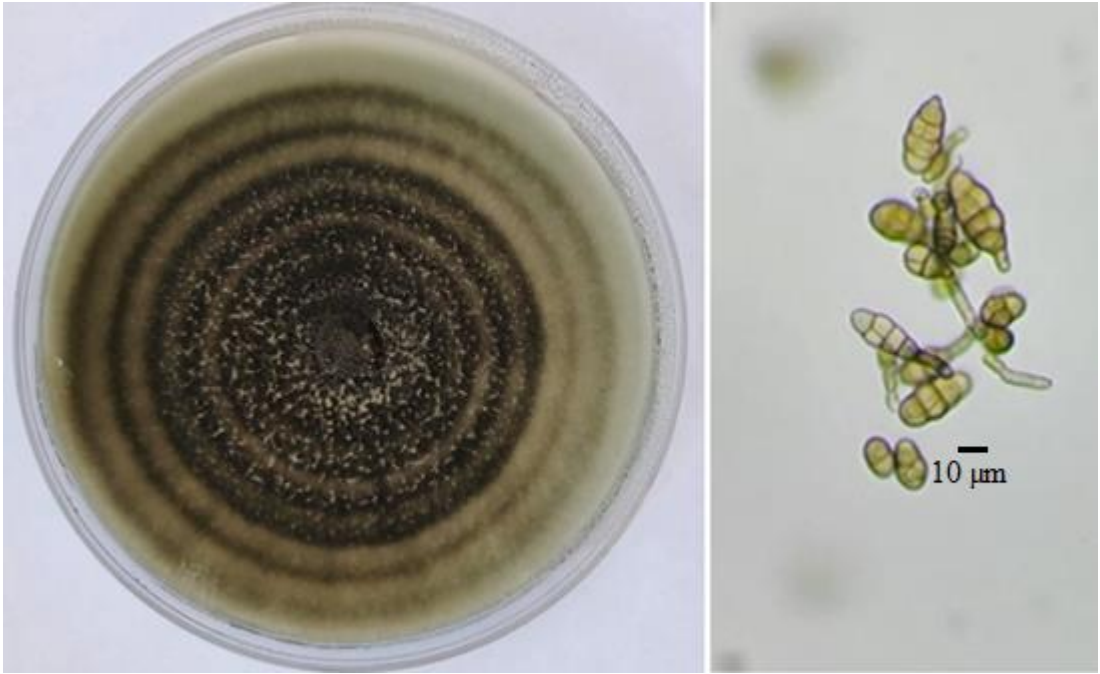
*Deneme deseni ve istatistik analizleri*

Çalışmadaki *in vitro* denemelerin tümü, her uçucu yağ ve uçucu yağ karışımı için uygulama dozu 3 tekrerrür olacak şekilde ayrı petrilere uygulanmıştır. Tesadüf Parselleri Deneme Planına göre deneme kurulmuş olup iki farklı zaman diliminde tekrarlanmıştır. Araştırmadan elde edilen sonuçlar Mstat-c istatistik programında tesadüf parselleri deneme desenine göre yorumlanmış ve ortalamalar arasındaki farklılıklar, en güvenilir farka (EGF) göre gruplandırılmıştır.

## **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

*Fungal izolatın patojenisite testi ve tanınması*

Denemelerde kullanılan fungal izolat, mandarin meyvelerinde çürümelere neden olan fungal etmenleri belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonrası elde edilmiştir. Bu amaçla yapılan izolasyonlar sonucunda, çok sayıda bitki türünde gerek hasat öncesi gerekse hasat sonrası fitopatogenik karakterli fungal etmen olan *A. alternata* M2-3 izolatı elde edilmiştir (Şekil 1).

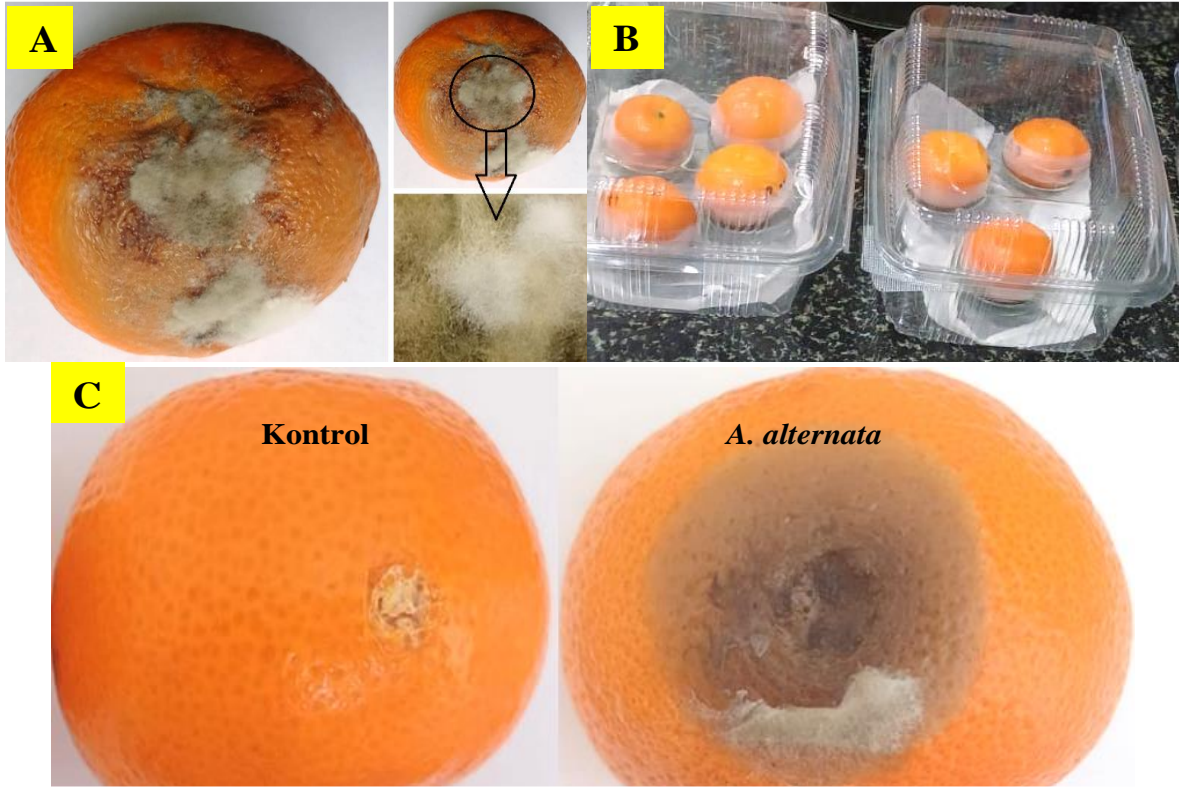


Şekil 1. Mandarin meyvelerinden yapılan izolasyonlar sonrası elde edilen *A. alternata* M2-3 izolatının PDA besi ortamı üzerindeki 10 günlük gelişimi (solda) ve bu izolata ait konidilerin ışık mikroskobu altındaki görünümü (sağda)

Figure 1. Growth of *A. alternata* M2-3 isolate obtained after isolation from mandarin fruits on PDA medium (left) and appearance of conidia of this isolate under light microscope (right)

Denemede kullanılan *A. alternata* M2-3 izolatının morfolojik olarak ön teşhis çalışması yapılmış, uçucu yağların antifungal etkileri araştırılmadan önce ise sağlık mandarin meyvelerinde patojenisite testi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2B). Patojenisite testine tabi tutulan sağlıklı mandarin meyvelerinde oluşan belirtilerden yapılan yeniden izolasyonlardan gelişen re-izolatlara, orijinal izolat için yapılmış olan benzer teşhis yöntemleri uygulanmış ve sonuç olarak elde edilen re-izolatların orijinal izolatla aynı türe ait olduğu, böylece bu izolatın mandarin meyvelerinde patojen olduğu saptanmıştır.

Patojenisite çalışması sonucu fungal izolatın test edilen mandarin meyvelerinin yüzeyinde, doğal yollarla enfekte olmuş meyvelerde gerçekleşen semptomlara benzer belirtileri oluşturduğu gözlenmiştir. Nitekim yapay olarak enfekte edilen 'Nova' çeşidi mandarin meyvelerinin inokulasyon bölgesi ve çevresinde meydana gelen çürümelerin rengi ve yapısı (merkezi koyu, çevresi nispeten açık kahverengi çürüklükler), doğal yollarla enfekte olmuş meyvelerde oluşan doku çürüklükleriyle benzer renk ve yapıda olduğu görülmüştür (Şekil 2 A,C).



Şekil 2. (A) Doğal şekilde *A. alternata* ile enfekte olmuş bir mandarin meyvesinin desikatöre alındıktan sonra yüzeyinde gelişen fungus miselyumları. (B) 'Nova' çeşidi sağlıklı mandarin meyvelerinde yapılan patojenisite çalışmaları (C) ve patojenisite testi sonucu kontrol meyvesine kıyasla *A. alternata* M2-3 izolatu inokule edilmiş bir mandarin meyvesi  
 Figure 2. (A) Fungal mycelium growing on the surface of a mandarin fruit naturally infected with *A. alternata* after being placed in a desiccator. (B) Pathogenicity tests on healthy mandarin fruits of the 'Nova' variety (C) and pathogenicity test results on a mandarin fruit inoculated with *A. alternata* M2-3 isolate compared to control fruit

Fungal izolatin makroskobik ve mikroskobik olarak ön teşhisinin yanı sıra (Şekil 1) kesin olarak tür tayini, moleküler yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla Universal primerlerden olan ITS primer çiftleri (ITS-AB28/ITS-TW81) ile yapılan moleküler, devamındaki sekans ve BLAST analizi sonrası mandarin meyvelerinde patojen olduğu tespit edilen izolatomuzun, %100 oranda "OW983122" erişim numaralı *A. alternata* izolatu ile eşleştiği belirlenmiştir. Bununla birlikte fungal izolatomuza ait sekans ve diğer bilgiler GenBank'a yüklenerek izolat için erişim numarası alınmıştır (GenBank erişim no: PQ142807).

*Bitki uçucu yağ ve karışımlarının Alternaria alternata M2-3 izolatının misel gelişimi üzerine olan in vitro antifungal etkileri*

Mandarinde patojen olan *A. alternata* M2-3 izolatına karşı çalışmadaki uçucu yağların tekli kullanımı sonrası engelleme durumlarına bakıldığında en etkili uçucu yağın *T. spicata* olduğu saptanmıştır (Çizelge 2, Çizelge 3). Bu

uçucu yağ 4.0 µl petri<sup>-1</sup> dozda misel gelişimini tümüyle engellerken (Şekil 3A) *O. onites* 32.0 µl petri<sup>-1</sup> ve *S. officinalis* 64.0 µl petri<sup>-1</sup> konsantrasyonda misel gelişimini tümüyle engelleyebilmişlerdir.

*A. alternata* M2-3 izolatına karşı çalışmadaki uçucu yağların karışım şeklinde kullanımları sonrası engelleme durumlarına bakıldığında en etkili uçucu yağ karışımlarının *T. spicata* + *S. officinalis* ve *T. spicata* + *O. onites* olduğu saptanmıştır (Çizelge 2, Çizelge 3). Bu uçucu yağ karışımları 8 µl petri<sup>-1</sup> dozda misel gelişimini tümüyle engellerken (Şekil 3D,F), *O. onites* + *S. officinalis* uçucu yağ karışımı ise 16 µl petri<sup>-1</sup> dozunda misel gelişimini tümüyle engellemiştir (Şekil 3E).

Yapılan istatistik analizi sonrasında patojene karşı uygulanan farklı uçucu yağ/karışım dozları arasındaki farkın önemli olduğu saptanmış olup (Çizelge 3), bu dozların M2-3 izolatının misel gelişimini % engellenmesi üzerine olan antifungal etkilerine ise Çizelge 2'de yer verilmiştir.

Çizelge 2. Farklı uçucu yağların *A. alternata*'nın misel gelişimini engelleme (%) düzeyleriTable 2. Levels of inhibition (%) of different essential oil on mycelial growth of *A. alternata*

Doz ( $\mu\text{l}$ petri <sup>-1</sup> )	Uçucu yağ ve karışımlarının fungus misel gelişimini yüzde (%) engelleme düzeyleri					
	<i>T. spicata</i>	<i>O. onites</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>T. spicata</i> + <i>O. onites</i>	<i>T. spicata</i> + <i>S. officinalis</i>	<i>O. onites</i> + <i>S. officinalis</i>
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1	74.0	0.0	31.4	70.3	18.1	51.4
2	78.5	0.0	37.0	84.0	24.8	69.6
4	<b>100.0</b>	4.0	51.4	83.3	37.0	75.9
8	100.0	24.4	53.7	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	77.0
16	100.0	37.0	57.03	100.0	100.0	100.0
32	100.0	100.0	78.14	100.0	100.0	100.0
64	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

Çizelge 3. Farklı uçucu yağ ve karışımlarının uygulanması sonrası *A. alternata*'nın petrilerde oluşturduğu koloni çapları (mm)Table 3. Colony diameters (mm) formed by *A. alternata* in petri dishes after application of different essential oils and their mixtures

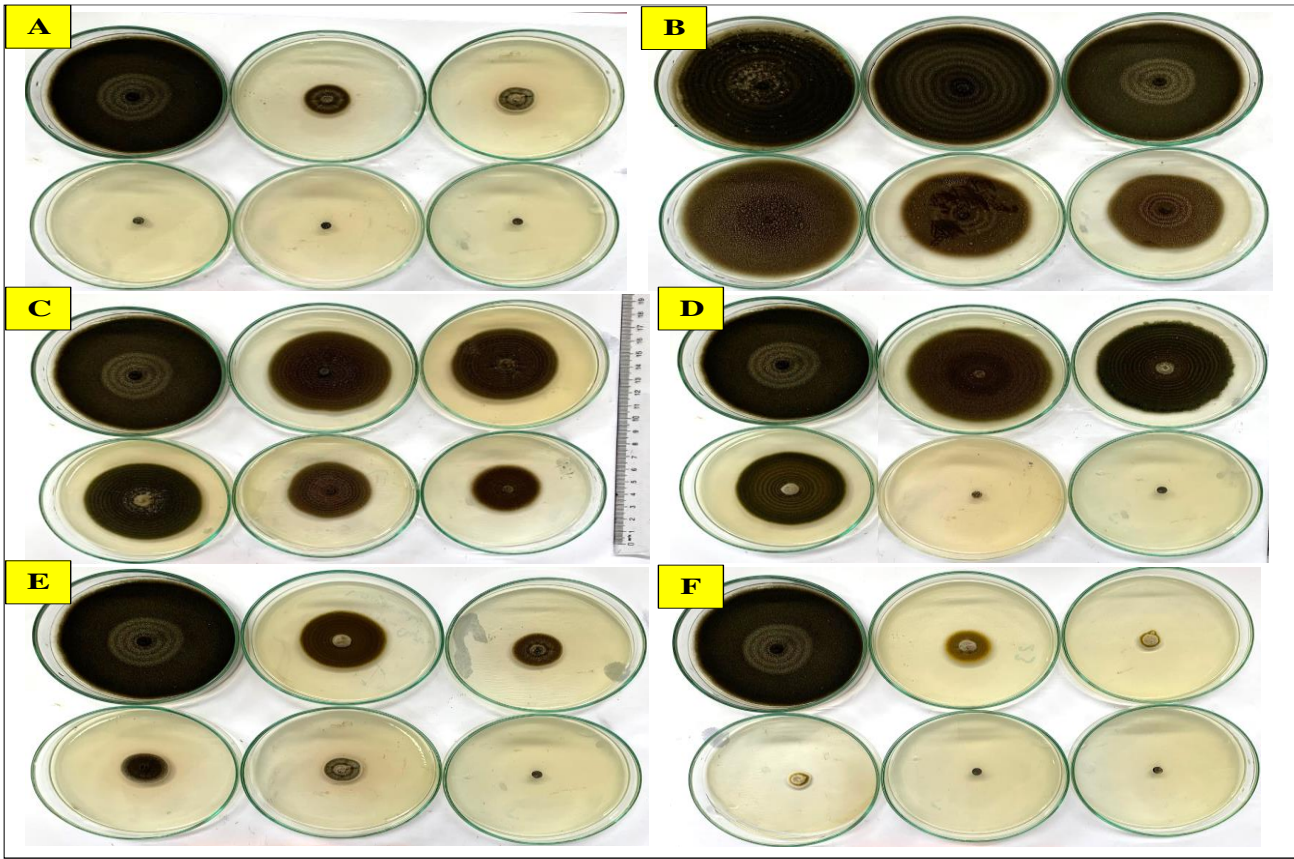
Doz ( $\mu\text{l}$ petri <sup>-1</sup> )	Uçucu yağ ve karışımlarının fungus misel gelişimi (mm) üzerine olan etkileri					
	<i>T. spicata</i>	<i>O. onites</i>	<i>S. officinalis</i>	<i>T. spicata</i> + <i>O. onites</i>	<i>T. spicata</i> + <i>S. officinalis</i>	<i>O. onites</i> + <i>S. officinalis</i>
0	90 a	90 a	90 a	90 a	90 a	90 a
1	23.33 j	90 a	61.67 e	26.67 ı	73.67 c	43.67 g
2	19.33 k	90 a	56.67 f	14.33 l	67.67 d	27.33 ı
4	<b>0 m</b>	86.33 b	43.67 g	15.00 l	56.67 f	21.67 jk
8	0 m	68.00 d	41.67 g	<b>0 m</b>	<b>0 m</b>	20.67 jk
16	0 m	56.67 f	38.67 h	0 m	0 m	0 m
32	0 m	0 m	19.67 k	0 m	0 m	0 m
64	0 m	0 m	0 m	0 m	0 m	0 m

EGF (LSD) 2.673 (En Güvenilir Fark)

Tüm uçucu yağ ve karışımlarda geçerli olmak üzere, genel olarak bir uçucu yağ uygulamasına ait MIC değeri altındaki farklı uygulama dozları arasında farkların olduğu, MIC değeri ve üzerindeki uygulama dozları arasında ise herhangi bir farkın olmadığı istatistiksel olarak tespit edilmiştir (Çizelge 2). Bu doğrultuda özellikle MIC değeri üzerindeki uygulama dozlarına gereksinim olmayacağı söylenebilir.

Bunların yanı sıra *O. onites*'in 0, 1 ve 2  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>, *S. officinalis*'in 4 ve 8  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup>, *T. spicata* + *O.*

*onites*'in 4 ve 8  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> ve *O. onites* + *S. officinalis*'in 4 ve 8  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> uygulama dozları arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark olmadığı görülmüştür. Bunlarla birlikte bazı farklı uçucu yağ uygulamaları arasında da istatistiksel farkın olmadığı belirlenmiştir. Nitekim *O. onites*'in 8 ile *T. spicata* + *S. officinalis*'in 2  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> dozları ve *O. onites*'in 16, *S. officinalis*'in 2 ve *T. spicata* + *S. officinalis*'in 4  $\mu\text{l}$  petri<sup>-1</sup> dozları arasında istatistiksel açıdan bir fark olmadığı saptanmıştır.



Şekil 3. Farklı bitki uçucu yağ ve karışımlarının farklı konsantrasyonlarda ( $0-16 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) fungal etmen *Alternaria alternata* M2-3 izolatının misel gelişimini *in vitro* koşullarda engelleme potansiyellerinin belirlenmesi. Farklı konsantrasyonlarda (A) *T. spicata*, (B) *O. onites*, (C) *S. officinalis*, (D) *T. spicata*+*S. officinalis*, (E) *O. onites*+*S. officinalis* ve (F) *T. spicata*+*O. onites* uçucu yağları uygulanmış petrilere oluşan misel gelişimleri

Figure 3. Determination of the potential of different plant essential oils and their mixtures at different concentrations ( $0-16 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) to inhibit the mycelial growth of the fungal agent *Alternaria alternata* M2-3 isolate under *in vitro* conditions. Mycelial growth in petri dishes treated with different concentrations of (A) *T. spicata*, (B) *O. onites*, (C) *S. officinalis*, (D) *T. spicata*+*S. officinalis*, (E) *O. onites*+*S. officinalis* ve (F) *T. spicata*+*O. onites* essential oils.

Çalışmada kullanılan *T. spicata*, *O. onites* ve *S. officinalis* bitki uçucu yağlarının tamamının tekli olarak kullanımları sonrası *A. alternata*'ya karşı uygulama dozuna bağlı şekilde değişen oranlarda antifungal etkiler sergiledikleri tespit edilmiştir. Uçucu yağların çalışmadaki fungal etmene karşı gösterdikleri antifungal etkinin içerdikleri bileşenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim uçucu yağların sahip oldukları fenolik bileşiklerin antimikrobiyal aktivitelerden sorumlu oldukları daha önce yapılan bir çok çalışmalarda bildirilmiştir (Kotan ve ark., 2005; Tripathi ve ark., 2008; Kotan ve ark., 2010). Bu çalışmada en yüksek antifungal etki sergileyen *T. spicata*'nın içeriğinde yer alan başlıca ana bileşenler karvakrol,  $\gamma$ -terpinen, p-simen,  $\beta$ -karyofilen ve timol olarak tespit edilmiş olup (Kizil ve ark., 2015; Gedikoğlu ve ark., 2019), denemelerde saptanan antifungal etkilerin bu ana bileşenlerin bir ya da

birkaçından meydana geldiği düşünülmektedir.

Benzer şekilde uçucu yağların 1:1 oranında hazırlanan ikili karışım kombinasyonlarının (*T. spicata* + *S. officinalis*, *O. onites* + *S. officinalis* ve *T. spicata* + *O. onites*) tümü de fungusun misel gelişimi üzerinde antifungal etkiler meydana getirmişlerdir. Özellikle karışım olarak uygulanan dozlar tekli kullanımlara oranla daha etkili olup bunlar sinerjistik şekilde antifungal etkiler meydana getirmişlerdir. Bitki uçucu yağları ya da bunlardan elde edilen ana bileşenlerin tekli olarak kullanılmaları sonucu hedef patojen üzerindeki etkilerinin daha düşük olabileceği, karışım şeklinde kullanılmaları suretiyle ise bu etkinin daha fazla olabileceği bildirilmiştir. Karışım olarak uygulanan bileşiklerde söz konusu bu etkinin, farklı bileşenlerin sinerjistik etkiler oluşturmasından ileri geldiği belirtilmektedir. Yapılan literatür taramalarında uçucu yağların

karışım olarak kullanılmaları sonrası meydana gelen etkinin belirlenmesine yönelik kısıtlı sayıda çalışma bildirilmiştir (Türkmen, 2015; Grati Affes ve ark., 2022). Bu doğrultuda yapılan bir çalışmada Kara ve ark. (2022) rezene ve defne bitkilerinden elde edilmiş uçucu yağların karışım halinde kullanılmaları sonucu limoni servi ağaçlarında patojen olan *Pestalotiopsis funerea*'ya karşı sinerjistik şekilde antifungal etkilerin meydana geldiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde bu çalışmada kullanılan uçucu yağlar da karışımlar şekliyle kullanıldıklarında sinerjistik etkiler gözlenmiş olup bu yönüyle çalışmaların bir birini destekler nitelikte olduğu söylenebilir.

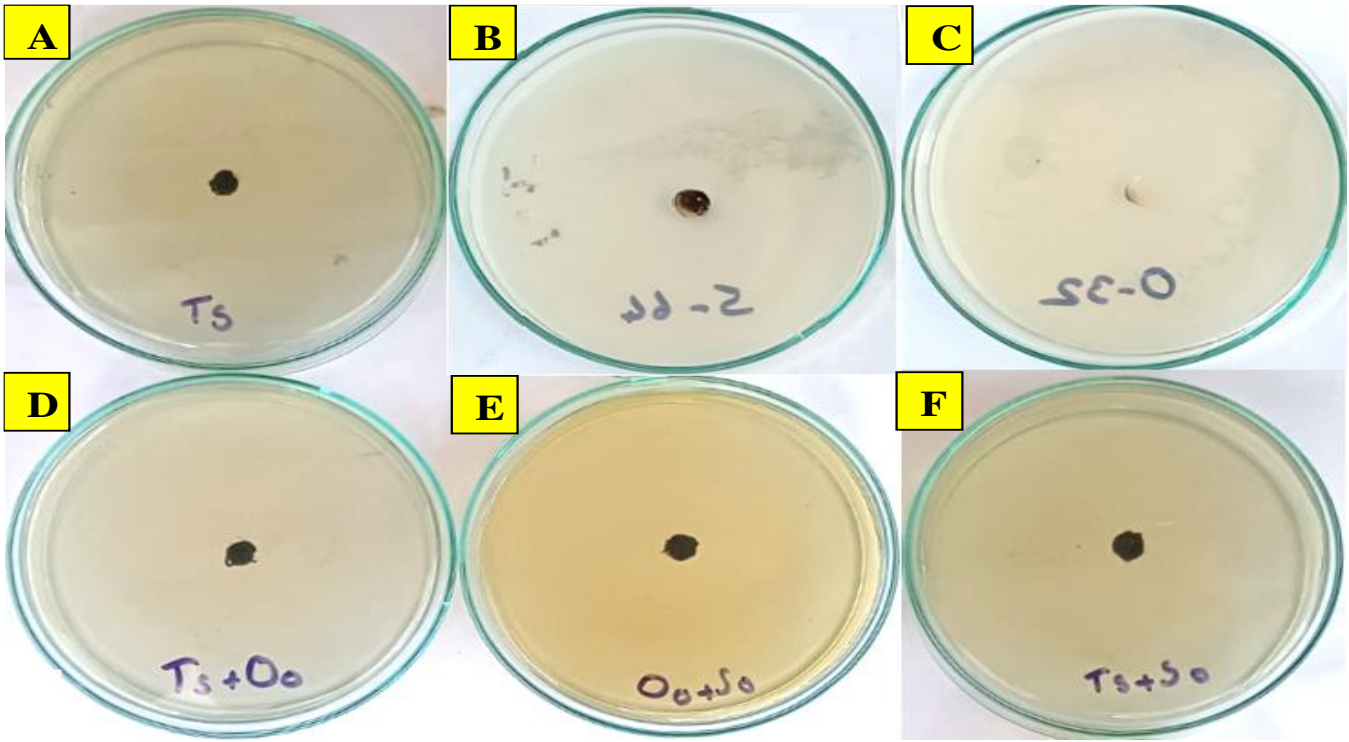
Bitki uçucu yağların çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, son dönemde araştırmacılar tarafından ilgi gören konular arasındadır. Yapılmış çalışmalara bakıldığında uçucu yağların genel olarak insan sağlığı üzerine etkilerinin araştırılmış olduğu görülmüş olup bitki patolojisi alanındaki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar nispeten azdır. Yapılan literatür taramalarında, farklı bitkilerden elde edilmiş *A. alternata* izolatlarına karşı bitkilerden elde edilmiş bitki uçucu yağlarının antifungal etkileri az sayıdaki çalışmada araştırılmıştır. Söz konusu çalışmalarda *A. alternata* izolatlarına karşı farklı bitki türlerinden elde edilmiş bazı uçucu yağ ve ekstraktlarının antifungal etkiler gösterdikleri bildirilmiş olup (Xu ve ark., 2014; Atay ve Soylu, 2023) doğrudan mandarin meyvelerinden izole edilen *A. alternata* izolatına karşı bitki uçucu yağları ve karışımlarının antifungal etkileri ilk defa bu çalışma ile ortaya koyulmuştur. Mandarin dışında farklı turuncgil meyvelerinde çürümelere neden olan *A. alternata* izolatlarına karşı ise bitki uçucu yağlarının antifungal etkilerinin araştırıldığı kısıtlı sayıda çalışmaya rastlanılmamış olup bunların birinde Soylu ve Köse (2015), *O. onites* ve *T. spicata* uçucu yağlarının sırasıyla 20.0 ve 80.0 µg ml<sup>-1</sup> konsantrasyonlarında turuncgillerde patojen olan *A. alternata*'nın miselyal büyümesini tümüyle inhibe ederek güçlü antifungal aktivite

gösterdiğini bildirilmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan kekik türlerinin de M2-3 izolatına karşı söz konusu çalışmadan farklı dozlarda da olsa antifungal etkiler sergilediği göz önünde bulundurulduğunda sonuçların bir birini destekler nitelikte olduğu görülmektedir. Turuncgiller dışında biber meyvelerinden izole edilen *A. alternata* izolatına karşı bazı bitki uçucu yağlarının antifungal etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise Atay ve Soylu (2023), farklı kekik türlerinden *T. spicata*, *O. syriacum* ve *T. vulgaris* uçucu yağlarının 2.0-4.0 µl petri<sup>-1</sup> dozlarında, fungal etmene karşı yüksek düzeyde antifungal etkiler sergilediklerini bildirmişlerdir. Bu denemede kullanılan kekik türlerinin de çok düşük dozlarda dahi fungal izolata karşı antifungal etkiler sergilemesiyle iki çalışmanın sonuçlarının birbirlerini destekler nitelikte oldukları söylenebilir.

#### *Uçucu yağ ve karışımlarının alternaria alternata M2-3 izolatına olan fungisidal ve fungistatik etkileri*

Denemede kullanılan uçucu yağların tekli ve karışımlarının MIC değerindeki *A. alternata*'ya olan fungisidal/fungistatik etkilerine bakıldığında %100 engeleme gösteren tüm konsantrasyonlarda (*T. spicata*=4µl petri<sup>-1</sup>, *O. onites*=32 µl petri<sup>-1</sup>, *S. officinalis*=64 µl petri<sup>-1</sup>, *T. spicata* + *O. onites*=8µl petri<sup>-1</sup>, *T. spicata* + *S. officinalis*=8µl petri<sup>-1</sup> ve *O. Onites* + *S. officinalis*=16µl petri<sup>-1</sup>) antifungal etkinin fungisidal özellikte olduğu belirlenmiştir (Şekil 4). Mandarin dışında kurutulmuş biber meyvelerinden izole edilmiş *A. alternata* izolatına karşı yapılmış bir çalışmada da bu çalışmadaki bulgulara paralel sonuçlar bildirilmiş olup (Atay ve Soylu, 2023) söz konusu çalışmadaki farklı kekik türlerine (*Thymus vulgaris*, *Thymbra spicata* ve *Origanum syriacum*) ait uçucu yağların MIC değerlerindeki antifungal etkilerinin fungisidal özellikte olduğu bildirilmiştir.





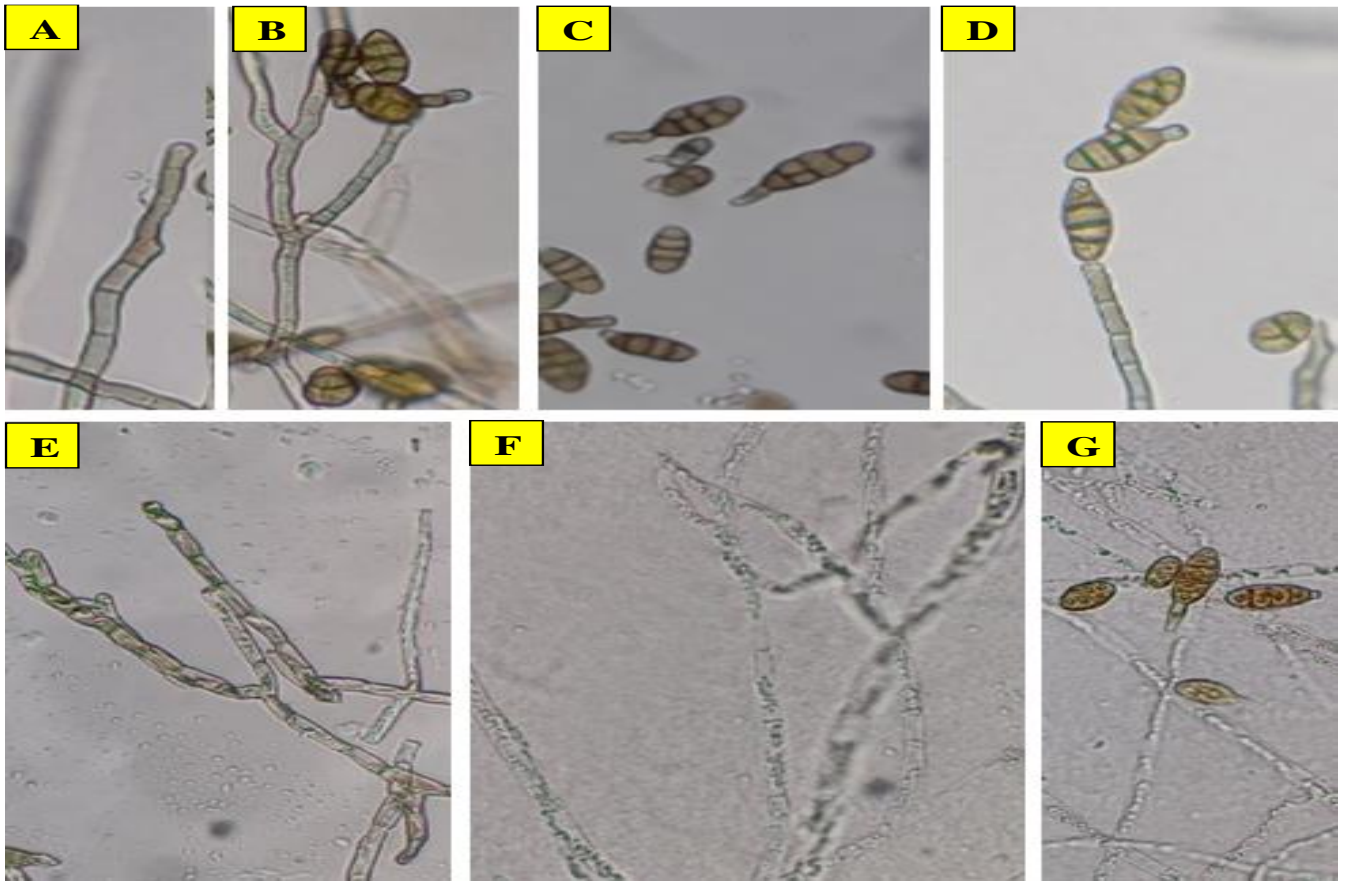
Şekil 4. %100 engellemenin görüldüğü MIC değerlerinde uçucu yağların, *Alternaria alternata* M2-3 izolatına olan fungisidal/fungistatik etkilerinin belirlenmesi çalışması. MIC değerlerinde; A) *T. spicata* ( $4 \mu\text{l petri}^{-1}$ ), B) *S. officinalis* ( $64 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) C) *O. onites*, ( $32 \mu\text{l petri}^{-1}$ ), D) *T. spicata*+*O. onites*, ( $8 \mu\text{l petri}^{-1}$ ), E) *O. onites*+*S. officinalis* ( $16 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) F) *T. spicata*+*S. officinalis* ( $8 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) uçucu yağlarının sergilemiş oldukları fungisidal etki

Figure 4. A study to determine the fungicidal/fungistatic effects of essential oils on *Alternaria alternata* M2-3 isolate at MIC values where 100% inhibition was observed. Fungicidal effects of essential oils on MIC values of; A) *T. spicata* ( $4 \mu\text{l petri}^{-1}$ ), B) *S. officinalis* ( $64 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) C) *O. onites*, ( $32 \mu\text{l petri}^{-1}$ ), D) *T. spicata*+*O. onites*, ( $8 \mu\text{l petri}^{-1}$ ), E) *O. onites*+*S. officinalis* ( $16 \mu\text{l petri}^{-1}$ ) F) *T. spicata*+*S. officinalis* ( $8 \mu\text{l petri}^{-1}$ )

#### Uçucu yağ ve karışımlarının *Alternaria alternata* M2-3 izolatının hif ve konidi morfolojisinde meydana getirdiği değişimler

Denemelerde kullanılan uçucu yağ ve karışımlarının MIC değerlerindeki dozları 3 günlük misel gelişimi gerçekleşen petrilere tekrardan uygulandıklarında, fungal izolatın hif ve konidi morfolojisinde çeşitli deformasyonların meydana geldiği, ışık mikroskobu altında yapılan incelemeler sonrası gözlenmiştir (Şekil 5C-E). Özellikle uç kısımlarda çapın daralması, çeperlerin bozulması ve parçalanması suretiyle yapısal bütünlüğün kaybedilmesi, hiflerde görülen başlıca morfolojik değişimler olarak kaydedilmiştir. Bunun yanı sıra uçucu yağ uygulamaları konidilerin morfolojisinde de değişiklikler meydana getirmiş olup uçucu yağ uygulanmış petrilere konidilerin, uçucu yağ uygulanmamış petrilere göre bariz şekilde deforme olduğu ve şekillerinin bozulduğu gözlenmiştir. Özellikle *T. spicata* uçucu yağının meydana getirdiği deformasyonların, diğer yağların meydana getirdiğinden daha fazla olduğu da gözlenmiştir. Uçucu yağların antimikrobiyal

özelliklerinin belirlenmesine yönelik yapılmış bazı çalışmalarda ise patojen üzerinde meydana gelen bu tür yapısal bozulmalara, yağın içeriğinde yer alan ana bileşenlerin, mikroorganizmanın hücre duvarı sentezini düzenleyen enzimatik reaksiyonların olumsuz etkilenmesinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Soylu ve ark., 2006; Lucas ve ark., 2012; Kachur ve Suntres, 2020). Uçucu yağ ve karışımlarının antifungal etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada Kara ve ark. (2022), *Foeniculum vulgare* ve *Laurus nobilis* uçucu yağ ve karışımlarının fungal etmen *Pestalotiopsis funerea*'nın hif ve konidileri üzerinde deformasyonlar meydana getirdiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan uçucu yağlar da söz konusu çalışmayı destekler nitelikte fungusun hifleri ve konidilerinde ciddi deformasyonlar meydana getirmiştir. Nitekim Şekil 5'te de görüleceği üzere uçucu yağ uygulanmış petrilere konidilerin, uçucu yağ uygulanmamış petrilere kıyasla bariz şekilde deforme oldukları görülmüştür.



Şekil 5. A-D) Herhangi bir uçucu yağ ile muamele edilmemiş *A. alternata* M2-3 izolatının PDA besi ortamında geliştirilen kültüründen yapılan preparatlar sonrası patojenin sağlıklı hif ve konidilerinin görünümü. MIC değerinde uygulanan *T. spicata* uçucu yağının fungal izolatın E,F) hif ve G) konidi morfolojisi üzerinde meydana getirdiği değişikliklerin ışık mikroskobu altında görünümü-

Figure 5. A-D) Appearance of healthy hyphae and conidia of the *A. alternata* M2-3 after preparations made from the culture of pathogen isolate grown in PDA medium without any essential oil treatment. Appearance of the changes caused by *T. spicata* essential oil applied at MIC value on the E,F) hyphae and G) conidia morphology of the fungal isolate under light microscope-

## Sonuçlar

Sonuç olarak, farklı bitki türlerinden elde edilmiş olan bitkisel kökenli uçucu yağlar, mandarin meyvelerinde hasat öncesi ve sonrası dönemde önemli bir patojen olan *A. alternata* izolatına karşı, doza bağlı şekilde *in vitro* şartlarda antifungal etkiler göstermişlerdir. Tek başına kullanımları sonucunda *T. spicata* uçucu yağı en etkili yağ olarak belirlenirken *S. officinalis* en düşük antifungal etkiyi göstermiştir. Bunların yanı sıra özellikle uçucu yağların karışım halindeki kullanımlarında sinerjistik antifungal etkiler saptanmış olup tekli kullanılmalarına kıyasla çalışmadaki uçucu yağ karışımlarının daha düşük dozlarda bile daha fazla antifungal etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bu uçucu yağlar bitki patojenleriyle mücadelede tekli veya özellikle karışım şeklinde, fungusitlere alternatif doğa dostu yaklaşımlar olarak özellikle depo koşullarında fumigant olarak kolay şekilde uygulanabilirler.

**Çıkar Çatışması:** Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

**Yazar Katkısı:** Fungal etmenin izole edilmesi ve uçucu yağların antifungal etkilerin belirlenmesi denemeleri Mehmet ATAY ve Meltem AVAN tarafından yürütülmüştür. Bitki uçucu yağlarının elde edilmesi ise Memet İNAN tarafından gerçekleştirilmiştir. Makalenin yazımı her üç yazarın katkısı ile gerçekleştirilmiş olup, makalenin son hali yazarlar tarafından okunarak onaylanmıştır.

## Kaynaklar

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265-267.
- Arlotta, C., Ciacciulli, A., Strano, M.C., Cafaro, V., Salonia, F., Caruso, P., Licciardello C, Russo G, Smith, M.W., & Cuenca, J. (2020.) Disease resistant citrus breeding

- using newly developed high resolution melting and CAPS protocols for *Alternaria* brown spot marker assisted selection. *Agronomy*, 10(9), 1368. <https://doi.org/10.3390/agronomy10091368>.
- Atay, M., & Soylu, S. (2023). Kurutmalık biber meyvelerinde iç çürüklüğüne neden olan bazı fungal etmenlere karşı bitki uçucu yağlarının in vitro antifungal etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 26(1), 76-89. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.1085859>.
- Avcı, A.B., & İnan, M. (2020). Comparing of Cultivated Annual and Perennial *Calendula officinalis* L. Species. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(3), 579-585.
- Bassimba, D., Mira, J.L., & Vicent, A. (2014). Inoculum sources, infection periods, and effects of environmental factors on *Alternaria* brown spot of mandarin in Mediterranean climate conditions. *Plant Disease*, 98(3), 409-417. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-13-0956-RE>
- Dang, H.X., Pryor, B., Peever, T., & Lawrence, C.B. (2015). The *Alternaria* genomes database: a comprehensive resource for a fungal genus comprised of saprophytes, plant pathogens, and allergenic species. *BMC Genomics* 16(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1430-7>
- De-Miguel, M.D., Caballero, P., & Fernández-Zamudio, M.A. (2019). Varietal change dominates adoption of technology in Spanish citrus production. *Agronomy*, 9(10), 631. <https://doi.org/10.3390/agronomy9100631>
- Elena, K. (2006). *Alternaria* brown spot of *Minneola* in Greece; evaluation of citrus species susceptibility. *European Journal of Plant Pathology*, 115, 259–262. <https://doi.org/10.1007/s10658-006-9005-8>
- FAO, (2024). Food and Agriculture Organization of the United Nations Official Website. Citrus fruit production data. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (Erişim Tarihi: 24.08.2024)
- Felipini, R.B., Brito, R.A.S., Azevedo, F.A., Massola, & Júnior, N.S. (2023). *Alternaria alternata* f. sp. citri tangerine pathotype induces reactive oxygen species accumulation in susceptible citrus leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 126, 102040. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102040>
- Garganese, F., Schena, L., Siciliano, I., Prigigallo, M.I., Spadaro, D., De Grassi, A., Ippolito, A., & Sanzani, S.M. (2016). Characterization of citrus-associated *Alternaria* species in Mediterranean areas. *PLoS One* 11(9), e0163255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163255>
- Garganese, F., Ippolito, A., Di Rienzo, V., Lotti, C., Montemurro, C., & Sanzani, S.M. (2018). A new high resolution melting assay for genotyping *Alternaria* species causing citrus brown spot. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(12), 4578–4583. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8986>
- Garganese, F., Sanzani, S.M., Di Rella, D., Schena, L., & Ippolito, A. (2019). Pre-and postharvest application of alternative means to control *Alternaria* Brown spot of citrus. *Crop Protection*, 121, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.03.014>.
- Gedikoğlu, A., Sökmen, M., & Çivit, A. (2019). Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food science & nutrition*, 7(5), 1704-1714.
- Ghooshkhaneh, N.G., Golzarian, M. R., & Mamarabadi, M. (2022). Withdrawn: Spectral pattern study of citrus black rot caused by *Alternaria alternata* and selecting optimal wavelengths for decay detection. *Food Science & Nutrition*, 10(6), 1694. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2739>
- Golmohammadi, M., & Rahimian, H., (2004). First report of brown spot caused by *Alternaria alternata* on tangrine in Iran. In *Proceedings of 16th Iranian plant protection congress*, (Vol. 28, p. 461). <https://doi.org/10.22059/ijpps.2017.233507.1006787>
- González-Lamothe, R., Mitchell, G., Gattuso, M., Diarra, M.S., Malouin, F., & Bouarab, K. (2009). Plant antimicrobial agents and their effects on plant and human pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(8), 3400-3419. <https://doi.org/10.3390/ijms10083400>
- Grati, Affes., T., Chenenaoui, S., Zemni, H., Hammami, M., Bachkouel, S., Aidi Wannas, W. & Lasram, S. (2022). Biological control of Citrus brown spot pathogen, “*Alternaria alternata*” by different essential oils. *International Journal of Environmental Health Research*, 33(8), 823-836. <https://doi.org/10.1080/09603123.2022.2055748>
- Güney, İ. G., Tekin, F., Günen, T. U., Özer, G., & Derviş, S. (2023). *Alternaria alternata* causing inner black rot of lemon (*Citrus limon*) fruits in Turkey: Genetic diversity and characterisation. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 125, 101998. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101998>
- Han, J., Fan, Y., Sun, T., An, J., Ding, Y., Zhang, W., Liu, F., & Wang, C. (2023). Sodium nitroprusside (SNP) treatment increases the postharvest resistance of apple fruit to *Alternaria alternata* by enhancing antioxidant enzyme activity. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 129, 102199. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.102199>
- He, J.Z., Shao, P., Liu, J. H., & Ru, Q.M. (2012). Supercritical carbon dioxide extraction of flavonoids from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peel and their antioxidant activity. *International journal of molecular sciences*, 13(10), 13065-13078. <https://doi.org/10.3390%2Fijms131013065>
- Kachur, K., & Suntres, Z. (2020). The Antibacterial Properties of Phenolic Isomers, Carvacrol and Thymol. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60, 3042-3053. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1675585>
- Kara, M., Türkmen, M., & Soylu, S. (2022). Rezene ve defne uçucu yağ karışımlarının kimyasal bileşenlerinin ve *Pestalotiopsis funerea*'ya karşı antifungal etkinliklerinin belirlenmesi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25 (1), 113-126. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdogavi.904966>
- Kizil, S., Toncer, O., Diraz, E., & Karaman, S. (2015). Variation

- of agronomical characteristics and essential oil components of Zahter (*Thymbra spicata* L. var. *spicata*) populations in semi-arid climatic conditions. *Turkish Journal of Field Crops*, 20(2), 242–251.
- Kotan, R., Sahin, F., Ala, A. (2005). Identification and pathogenicity of bacteria isolated from pome fruits trees in eastern Anatolia region of Turkey. *J. Plant Dis. Prot.*, 113, 8–13.
- Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H., ... & Dikbas, N. (2010). Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea*, *Satureja* and *Thymus* species against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 145-160.
- Lee, S.B., Taylor, J.W. (1990). Isolation of DNA from fungal mycelia and single spores. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (eds) *PCR protocols: a guide to methods and applications*, pp 282–287.
- Lucas, G.C., Alves, E., Pereira, R.B., Perina, F.J. & de Souza, R.M. (2012). Antibacterial activity of essential oils on *Xanthomonas vesicatoria* and control of bacterial spot in tomato. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 47, 351-359. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2012000300006>
- Morales, H., Marín, S., Ramos, A.J. & Sanchis, V. (2010). Influence of post-harvest technologies applied during cold storage of apples in *Penicillium expansum* growth and patulin accumulation: a review. *Food Control*, 21(7), 953-962. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.12.016>
- Perina, F.J., de Andrade, C.C.L., Moreira, S.I., Nery, E.M., Ogoshi, C., & Alves, E. (2019). Cinnamomun zeylanicum oil and trans-cinnamaldehyde against *Alternaria* brown spot in tangerine: direct effects and induced resistance. *Phytoparasitica*, 47, 575-589. <https://doi.org/10.1007/s12600-019-00754-x>
- Raveau, R., Fontaine, J., & Lounès-Hadj, S.A. (2020). Essential oils as potential alternative biocontrol products against plant pathogens and weeds: a review. *Foods*, 9(3):365. <https://doi.org/10.3390/foods9030365>
- Scora, R.W. (1975). On the history and origin of Citrus. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, (Nov.-Dec. 1975), 369-375.
- Silalahi, J. (2002). Anticancer and health protective properties of citrus fruit components. *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 11(1), 79-84. <https://doi.org/10.1046/j.1440-6047.2002.00271.x>
- Soylu, E.M., & Kose, F. (2015). Antifungal activities of essential oils against citrus black rot disease agent *Alternaria alternata*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(4), 894-903. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.895158>
- Soylu, E.M., Soyly, S. & Kurt, S. (2006). Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161, 119-128. <https://doi.org/10.1007/s11046-005-0206-z>
- Tripathi, P., Dubey, N.K. & Shukla, A.K. (2008). Use of Some Essential Oils as Post-Harvest Botanical Fungicides in the management of Grey Mould of Grapes Caused by *Botrytis cinerea*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, 39–46. <https://doi.org/10.1007/s11274-007-9435-2>
- Türkmen, M. (2015). Farklı Yöntemlerle Elde Edilen Uçucu Yağ Karışımlarının Antifungal Etkinliklerinin Belirlenmesi. *Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi*, 55 sayfa.
- Vega, B., & Dewdney, M.M. (2014). QoI-resistance stability in relation to pathogenic and saprophytic fitness components of *Alternaria alternata* from citrus. *Plant Disease*, 98(10), 1371-1378. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-14-0078-RE>
- Vicent, A., Armengol, J., Sales, R., García-Jiménez, J., & Alfaro-Lassala, F. (2000). First report of *Alternaria* brown spot of citrus in Spain. *Plant Disease*, 84(9), 1044-1044. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.9.1044B>
- Villaverde, J.J., Sevilla, Morán. B., Sandín España, P., López-Goti, C., & Alonso Prados, J.L. (2014). Biopesticides in the framework of the European Pesticide Regulation (EC) No. 1107/2009. *Pest Management Science*, 70(1), 2-5. <https://doi.org/10.1002/ps.3663>
- Wang, Y., Qian, J., Cao, J., Wang, D., Liu, C., Yang, R., & Sun, C. (2017). Antioxidant capacity, anticancer ability and flavonoids composition of 35 citrus (*Citrus reticulata* Blanco) varieties. *Molecules*, 22(7), 1114. <https://doi.org/10.3390/molecules22071114>
- White, T.J., Bruns, T, Lee, S.J.W.T., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protoc A Guide To Methods Appl* 18(1):315–3.
- Wichtl, (1971). *Die pharmakogostich-Chemisehe Analys Band*, 12, Frankfurt/M.
- Xu, S.X., Yan, F.J., Ni, Z.D., Chen, Q.R., Zhang, H. & Zheng, X.D. (2014). In vitro and in vivo control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of Chinese Origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 94, 1403-1408. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6428>
- Zhang, Y.M., Sun, Y., Xi, W.P., Shen, Y., Qiao, L.P., Zhong, L.Z., Ye, X.Q., & Zhou, Z.Q. (2014). Phenolic compositions and antioxidant capacities of Chinese wild mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruits. *Food Chemistry*, 145, 674-680. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.012>
- Zou, Z, Xi, W.P., Hu, Y., Nie, C., & Zhou, Z.Q. (2016). Antioxidant activity of Citrus fruits. *Food Chemistry*, 196, 885–896. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.09.072>
- Zhou, T., Wang, X., Ye, B., Shi, L., Bai, X., & Lai, T. (2018). Effects of essential oil decanal on growth and transcriptome of the postharvest fungal pathogen *Penicillium expansum*. *Postharvest Biology and Technology*, 145, 203-212. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.07.015>



# Kayseri ili nohut ekim alanlarında nohut yapraksineği [*Liriomyza cicerina* Rondani (Diptera: Agromyzidae)]'nin yaygınlığı, bulaşıklık oranı ve popülasyon dalgalanması

## Prevalence, Contamination Rate and Population Fluctuation of Chickpea Leaf Fly [*Liriomyza cicerina* Rondani (Diptera: Agromyzidae)] in Chickpea Planting Areas of Kayseri Province

Ahmet ÖZKAN<sup>1\*</sup>, Murat MUŞTU<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Erciyes Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Kayseri, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0009-0003-9819-6178>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-9428-9236>

### To cite this article:

Özkan, A. & Muştı, M. (2024). Kayseri ili nohut ekim alanlarında nohut yapraksineği [*Liriomyza cicerina* Rondani (Diptera: Agromyzidae)]'nin yaygınlığı, bulaşıklık oranı ve popülasyon dalgalanması. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 584-592

DOI: 10.29050/harranziraat.1501254

### \*Address for Correspondence:

Ahmet ÖZKAN  
e-mail:  
aозkan38@gmail.com

### Received Date:

14.06.2024

### Accepted Date:

04.11.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ÖZ

Nohut (*Cicer arietinum* L.), insan beslenmesinde önem taşıyan bitkisel kaynaklı besinler arasında yer almaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, beslenme ihtiyaçlarını gidermek için tüketilen uygun fiyatlı bitkisel protein kaynakları arasındadır. İnsan beslenmesinin yanında nohut, toprak verimliliği yönünden önemli bir etkiye sahiptir. Nohut verimini etkileyen önemli faktörler arasında zararlılar, hastalıklar ve yabancı otlar gibi canlı etmenler ile kuraklık, donma, düşük ve yüksek sıcaklıklar ile tuzluluk gibi cansız etmenler bulunmaktadır. Bu etmenler arasında nohut yapraksineği bitkide verim ve kaliteyi etkileyen ana zararlı konumundadır. Çalışmamız Kayseri ilinde 2022 üretim yılında nohut bitkisinin önemli zararlılarından *Liriomyza cicerina* Rondani (Diptera: Agromyzidae)'nin yaygınlığının, bulaşıklık oranının ve popülasyon dalgalanmasının tespiti amacıyla yapılmıştır. Yapılan gözlemler sonucunda, *Liriomyza cicerina*'nın nohut ekimi yapılan tüm ilçelerde bulunduğu belirlenmiştir. *Liriomyza cicerina*'nın ilk erginlerinin Mayıs ayının ikinci haftasından itibaren çıkmaya başladığı, Haziran ayının üçüncü haftası itibariyle artış gösterdiği bu artışın Temmuz ayının üçüncü haftası itibariyle tekrarlandığı tespit edilmiştir. Elde edilen verilere göre söz konusu zararlının Kayseri ili iklim koşullarında yılda 2 döl verdiği düşünülmektedir. Farklı lokasyonlardan toplanarak kültüre alınan bulaşık bitki örneklerinden zararlının parazitoiti olarak *Opius monilicornis* (Hymenoptera: Braconidae)'in teşhisi yapılmıştır. Bulaşıklık oranı çalışmalarında, 15 ilçe de sörvey yapılmış olup bulaşıklık oranları sırasıyla; Felahiye %76, Özvatan %74, Yahyalı %72, Bünyan %70, Develi %70, Pınarbaşı %68, Kocasinan %64, İncesu %64, Talas %64, Yeşilhisar %58, Melikgazi %56, Sarioğlan %56, Tomarza %46, Akkışla %44 ve Sarız %42 olarak tespit edilmiştir. Bulaşıklık oranının en yüksek olduğu ilçe Felahiye (%76) en düşük olduğu ilçe ise Sarız (%42) olmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Kayseri, *Liriomyza cicerina*, Popülasyon dalgalanması, bulaşıklık oranı, Nohut

### ABSTRACT

Chickpea (*Cicer arietinum* L.) are among the legumes that are among the top plant-based foods that are important in human nutrition. It is among the affordable plant protein sources consumed to meet nutritional needs, especially in developing countries. In addition to human nutrition, chickpeas have a significant impact on soil fertility. Among these factors, chickpea leaf fly is the main pest affecting the yield and quality of the plant. This study was carried out in Kayseri Province in 2022 to monitoring the

population of *Liriomyza cicerina* Rondani (Diptera: Agromyzidae), one of the most important pests of chickpea, and to determine the infestation rate. As a result of the observations, it was determined that *Liriomyza cicerina* is found in all districts where chickpea is cultivated. It was determined that the first adults of *Liriomyza cicerina* started to emerge from the second week of May, increased as of the third week of June, and this increase was repeated as of the third week of July. In order to determine the contamination rate, 15 districts were visited and the contamination rates were respectively; Felahiye 76%, Özvatan 74%, Yahyalı 72%, Bünyan 70%, Develi 70%, Pınarbaşı 68%, Kocasinan 64%, İncesu 64%, Talas 64%, Yeşilhisar 58%, Melikgazi 56%, Sarıoğlan 56%, Tomarza 46%, Akkışla 44% and Sarız 42%. The district with the highest contamination rate was Felahiye (76%), and the district with the lowest rate was Sarız (42%).

**Key Words:** Kayseri, *Liriomyza cicerina*, population fluctuation, contamination ratio, chickpea

## Giriş

Nohut (*Cicer arietinum* L.), Fabales takımından Fabaceae familyasından bir bitkidir. Dünya üzerinde geniş bir coğrafyada nohut yetiştiriciliği yapılmaktadır. Kuzeyde Rusya'dan güneyde Avustralya'ya kadar uzanan alanlarda yetiştiriciliği yapılmaktadır (Ladizinsky ve Adler 1976; Smithson vd. 1985; Singh 1997).

Nohut, insan beslenmesinde önem taşıyan bitkisel kaynaklı besinlerin üst sıralarında bulunan baklagiller arasında yer almaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde, beslenme ihtiyaçlarını gidermek için tüketilen uygun fiyatlı bitkisel protein kaynakları arasındadır.

Türkiye'de 2021 yılı bilgilerine göre, yaklaşık 488 bin ha alanda nohut tarımı yapılmış ve 475 bin ton ürün elde edilmiştir. Ortalama dekar verimi ise 93 kilogramdır. Önceki yıllara göre iklimsel faktörlerden dolayı ortalama nohut verimi azalmıştır. Nohut üretiminde Ankara, Yozgat, Kırşehir illeri ilk sıralarda yer almakta olup, 2022 yılı verilerine göre Kayseri 137692 da nohut ekiliş alanı ile Türkiye genelinde 9. sıradadır (TÜİK, 2022).

Kayseri'de Felahiye, Kocasinan ve Bünyan ilçeleri yoğunlukta olmak üzere hemen hemen bütün ilçelerinde nohut yetiştiriciliği yapılmaktadır. 2004 yılından 2022 yılına kadar üretim alanlarında özellikle son dört yılda önemli derecede artış gözlemlenmektedir. 2018 yılında il genelinde 75212 dekarlık bir alanda nohut yetiştiriciliği yapılmakta iken bu alan 2019 yılında 93617 dekara, 2020 yılında 95318 dekara, 2021 yılında 118858 dekara ve 2022 yılında 137692 dekarlık alana yükselmiştir (TÜİK, 2022).

Nohut verimini etkileyen en önemli faktörler arasında zararlılar, hastalıklar ve yabancı otlar gibi biyotik etmenler ile kuraklık, donma, düşük (<

1.5°C) ve yüksek sıcaklıklar ile tuzluluk gibi abiyotik etmenler bulunmaktadır. Üretimde, biyotik etmen kaynaklı olarak %58 ve abiyotik etmen kaynaklı olarak %42 düzeyinde kayıplar oluşabilmektedir (Croser vd., 2003).

*Liriomyza cicerina* Rondani, 1875 ( Diptera: Agromyzidae ) -larvaları, bitkilerin genellikle yaprak ve kök kısımlarında galeri açan zararlıdır. Agromyzidae familyası, 27 cins ve 2742 tür sayısı ile Diptera takımın en kalabalık familyalarından biri olarak bilinmektedir (Hepdurgun vd., 2007). Nohut yapraksineğinin larvaları, konukçusu olduğu bitkilerin yapraklarının epidermis tabakaları arasında galeri açar ve mesofil tabakası ile beslenir. Aşırı bulaşık üretim alanlarda zararlının larvalarının vermiş olduğu bu zarar sonucunda, bitkinin yapraklarındaki klorofilin yok olması nedeniyle birlikte fotosentez yavaşlamakta, bitkiler zayıflayarak verimde önemli kayıplar meydana gelmektedir (Kaplan, 2008). Zararlı ile ilgili %30'a ulaşan verim kayıpları yaygın olarak kaydedilmiştir (Weigand ve Tahhan, 1990). Larvaların vermiş olduğu bu zarardan başka dişilerin yumurta bırakmak ve beslenme için ovipozitörlerini bitkiye sokup çıkarmaları sonucu, bitkilerde klorofil parçalanmasına sebep olarak, yapraklarda küçük küçük beyaz nokta şeklinde lekeler oluşturmaktadır. Ergin sineklerin bu hareketleri sırasında bazı bitki hastalık etmenlerini de taşıdıkları bilinmektedir. Yapılan araştırmalarda, Agromyzidae familyasına ait 8 adet türün, 8 adet fungal ve 7 adet virüs hastalık etmenini çeşitli bitkilere bulaştırdığı saptanmıştır (Civelek ve Önder, 1997; Civelek, 2002).

Bu çalışma, Kayseri'de nohut bitkisinin ana zararlısı konumunda bulunan ve önemli verim kaybına neden olan Nohut yapraksineğinin il genelindeki bulaşıklık durumu, yayılış oranları ve

popülasyon dalgalanmasını belirlemek için yapılmıştır. Yaptığımız çalışma 2023 yılında 5. International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences ve YÖK Tez de 827554 tez no ile yayınlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

Çalışma, *L. cicerina*'nın Kayseri ilinde yaygınlığının ve bulaşıklık oranının belirlenmesi ile popülasyon dalgalanmasının belirlenmesi olarak iki aşamalı olarak yürütülmüştür. Ayrıca, bulaşık bitkiler kültüre alınarak zararlıların parazitoitleri belirlenmeye çalışılmıştır.

### Yaygınlık ve bulaşıklık oranının belirlenmesi

*L. cicerina*'nın Kayseri genelindeki yaygınlığının ve bulaşıklık oranının tespiti için, Kayseri'de yoğun olarak nohut yetiştiriciliği yapılan ilçelerden Kocasinan, Melikgazi, İncesu, Develi, Yeşilhisar, Yahyalı, Tomarza, Talas, Bünyan, Sarız, Pınarbaşı, Özvatan, Felahiye, Sarioğlan ve Akkışla ilçelerindeki Azkan çeşidi nohut tarlalarında sörvey yapılarak, galerili bitkilerin sayımları yapılmıştır. Sadece Hacılar ilçesinde ekiliş alanı yok denecek kadar az olduğu için gözlem ve sayım yapılmamıştır. Belirlenen tarlaların köşegenleri doğrultusunda ilerlenerek rastgele 50 bitki seçilmiştir. 2-3 galerili yaprağı olan bitki bulaşık kabul edilmiştir (TAGEM, 2017). Örnek alınan arazi

büyüklikleri birbirine yakın (5-20 dekar) tutulmuştur. Rastgele seçilen bitkiler incelenerek galerili bitkilerin sayımı yapılmış olup, her ilçenin bulaşıklık oranı (%) ve Kayseri ili nohut ekilişi yapılan alanlarda geneli bulaşıklık oranı ile zararlıların yaygınlığı tespiti yapılmıştır. Sörveylerde, ilçelerdeki nohut ekili alanların en az %10'unda örnekleme yapılmıştır.

### Popülasyon dalgalanmasının belirlenmesi

Zararlıların popülasyon dalgalanmasının belirlenmesi için Kayseri ilinin nohut bitkisinin en çok yetiştiriciliği yapılan üç farklı ilçesi Kocasinan, Bünyan ve Felahiye'de ve her ilçede üç farklı lokasyonda nohut ekili araziler belirlenerek bu arazilere ikişer adet sarı yapışkan tuzak asılmıştır. İlk erginler görülünceye kadar tuzaklar haftada iki kez kontrol edilmiş olup, daha sonra haftalık olarak gözlem sayımlar yapılmıştır. Tuzaklar 19 Nisan 2022 tarihinde asılmış olup, 20.08.2022 tarihine kadar toplam 19 adet gözlem yapılmıştır. 12.08.2022 tarihinden sonra nohut bitkileri hasat edilmiş olup, hasattan yaklaşık bir hafta sonra 20.08.2022 tarihinde tuzaklarda son sayımlar yapılmıştır. Tuzaklar, yapışma özelliğinin zayıflama ihtimali göz önüne alınarak haftalık olarak değiştirilmiştir.

Kocasinan ilçesinde belirlenen mahallelerdeki arazilere ait özellikler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Kocasinan ilçesinde belirlenen mahallelerdeki arazilere ait özellikler

Table 1. Characteristics of the lands in the neighborhoods determined in Kocasinan district

Mahalle adı (Neighbourhood name)	Ada parsel (Plot)	Arazi Alanı (Da) (Land area) (Da)	Rakım (m) (Altitude) (m)	Koordinatları (Coordinates)
Hasancı	11004/3	5.065	1188	N:38°95'693'' E:35°53'005''
Taşhan	8359/50	5.464	1363	N:38°84'830'' E:35°46'381''
Molu	114/7	4.730	1317	N:38°81'495'' E:35°36'313''

Felahiye ilçesinde belirlenen mahallelerdeki arazilere ait özellikler Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Felahiye ilçesinde belirlenen mahallelerdeki arazilere ait özellikler

Table 2. Characteristics of the lands in the neighborhoods determined in Felahiye district

Mahalle adı (Neighbourhood name)	Ada parsel (Plot)	Arazi Alanı (Da) (Land area) (Da)	Rakım (m) (Altitude) (m)	Koordinatları (Coordinates)
Kale	323/63	19.400	1382	N:39°11'103'' E:35°59'091''
Kepiç	114/21	9.370	1282	N:39°09'923'' E:35°51'649''
Alparslan	105/91	4.112	1364	N:39°04'386'' E:35°49'122''

Bünyan ilçesinde belirlenen mahallelerdeki arazilere ait özellikler Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Bünyan ilçesinde belirlenen mahallelerdeki arazilere ait özellikler

Table 3. Characteristics of the lands in the neighborhoods determined in Bünyan district

Mahalle adı (Neighbourhood name)	Ada parsel (Plot)	Arazi Alanı (Da) (Land area) (Da)	Rakım (m) (Altitude) (m)	Koordinatları (Coordinates)
Yavuzselim	433/17	18.900	1547	N:38°84'854'' E:35°93'573''
Akçatı	231/14	4.760	1524	N:38°78'688'' E:36°00'770''
Musaşeyh	116/1	13.978	1460	N:38°91'902'' E:35°93'264''

#### Doğal düşmanların belirlenmesi

Kayseri ilçeleri nohut ekim alanlarından toplanan bulaşık nohut yaprakları, 3 litrelik plastik kaplar içine alınarak, ağız kısımları ince tül ile kapatılmıştır. İl genelinde 32 farklı lokasyondan örnek alınmış, bitki örneklerinin saplarına kurumamaları için ıslak pamuk sarılarak plastik kaplar içine konulmuş ve pupalar elde edilmiştir. Elde edilen pupalardan ergin parazitoit çıkışı tamamlanincaya kadar beklenmiştir. Pupalardan çıkan parazitoitler içerisinde %70'lik etil alkol bulunan ependorf tüplere alınarak teşhise hazır hale getirilmiştir. Parazitoit türün teşhisi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Biyoteknoloji bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Coşkun GÜÇLÜ tarafından yapılmıştır.

Verilerin istatistiksel analizi

İlçeler arasındaki bulaşıklık oranları ve hafta bazında tuzaklarda sayılan ergin sayıları Tek yönlü varyans analizine (Anova) ve ortalamalar arasındaki farklar Duncan testine tabi tutulmuştur. İstatistiksel analizler SAS 8.0 (SAS Inst., 2014) istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır.

#### Bulgular ve Tartışma

*Liriomyza cicerina'nın Kayseri ili nohut tarlalarındaki yaygınlık ve bulaşıklık oranının belirlenmesi*

Kayseri İli Kocasinan, Melikgazi, İncesu, Develi, Yeşilhisar, Yahyalı, Tomarza, Develi, Bünyan, Sarız, Pınarbaşı, Özvatan, Felahiye, Sarıoğlan ve Akkışla ilçelerinde örnekleme yapılan nohut tarlalarının tamamında *L. cicerina'nın* yayılış gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4).



Çizelge 4. *Liriomyza cicerina*'nın Kayseri ilçelerindeki bulaşıklık oranlarıTable 4. Contamination rates of *Liriomyza cicerina* in Kayseri districts

İlçe (District)	Mahalle (Neighbourhood)	n**	Bulaşıklık oranı (%) (Contamination rate) (%)
Felahiye	Kepiç	120	76.00a*
	Büyüktoraman		
Özvatan	Kale	30	73.47b
	Darılı		
Yahyalı	Küpeli	120	72.00b
	Alparslan		
Bünyan	İsmet	100	69.95c
	Taşhan		
Develi	Akçatı	40	69.48cd
	Musaşeyh		
Pınarbaşı	Gergeme	80	68.02d
	Koyunabdal		
Kocasinan	Öksüt	90	63.96e
	Kulpak		
İncesu	Akören	10	63.69e
	Tersakan		
Talas	İnliören	15	63.37e
	Panlı		
Yeşilhisar	Höbek	25	57.30f
	Taşhan		
Sarıoğlan	Eskiömerler	60	55.90f
	Yüreğil		
Melikgazi	Hamurcu	15	55.37f
	Saraycık		
Tomarza	Alaybeyli	70	45.92g
	Kavak		
Akkışla	Gülbayır	15	43.37gh
	Ebulhayr		
Sarız	Yıldırım	15	41.37h
	Büyükbürüngüz		

\* Sütunlar bazında aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel bir farklılık yoktur

\*\*İlçe bazında sörvey yapılan arazi sayıları

Yapılan sayımlarda *L. cicerina*'nın en yüksek bulaşıklık oranının %76 ile Felahiye ilçesinde, en düşük bulaşıklık oranının ise %42 ile Sarız ilçesinde olduğu tespit edilmiştir. (Çizelge 4). Bulaşıklık oranı belirleme çalışmalarında, ilçelerdeki nohut ekili alanların en az %10'u gezilmiş olup, aynı mevkilerdeki arazilerde bile *L. cicerina* ile bulaşıklık oranının dengeli bir dağılım göstermediği gözlemlenmiştir. Örneğin; Bünyan ilçesi Musaşeyh mahallesinde birbirine yakın sayılabilecek

parsellerin birinde %80 bulaşıklık oranı belirlenmişken diğer parselde %20 bulaşıklık oranı tespit edilmiştir.

İlçelerin bulaşıklık oranlarının belirleme çalışmaları sırasında sörvey yapılan her bir tarla bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Çalışmada lokasyonların bulaşıklık oranı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ).

*Liriomyza cicerina*'nın Kayseri ili nohut

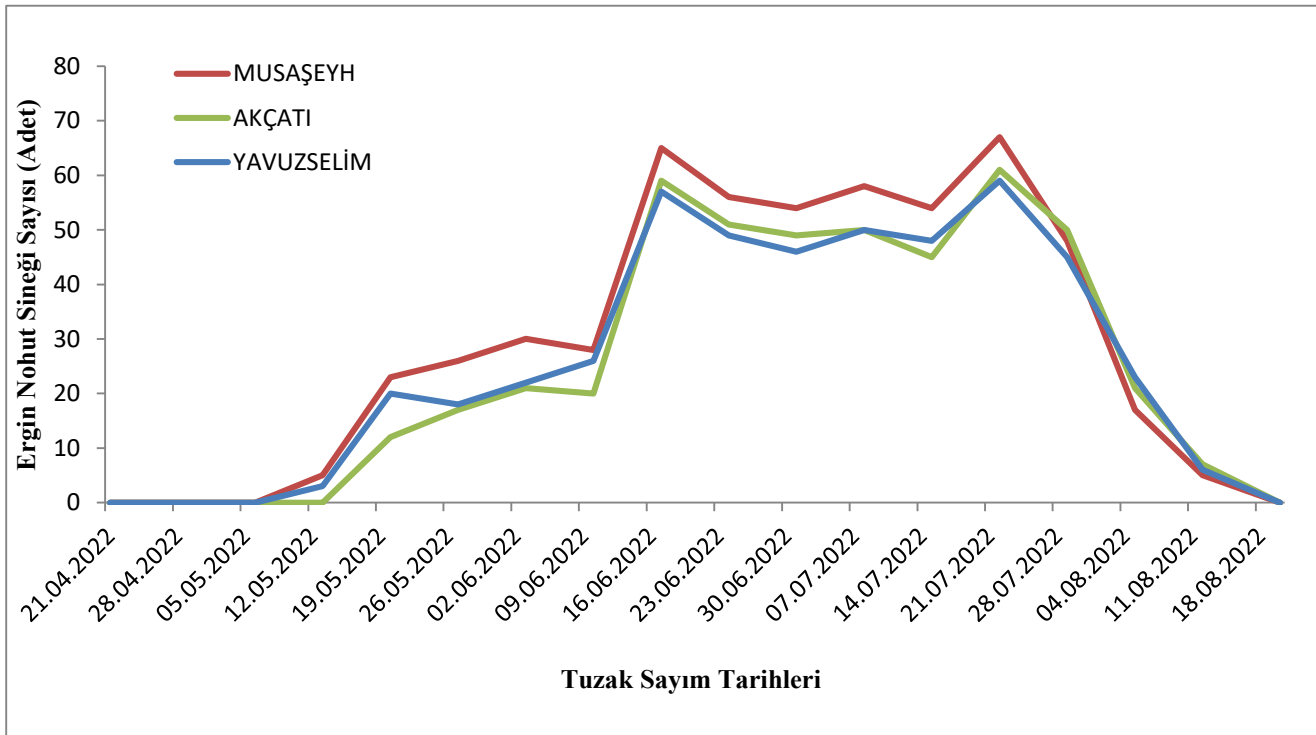
### tarlalarındaki popülasyon değişiminin belirlenmesi

Popülasyon takibi çalışmaları kapsamında yapılan sayımlar ve tarihleri Çizelge 4'te belirtilmiştir. Araştırmada aynı sayım tarihlerinde ilçeler arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık saptanmamıştır.

Çalışmada, zararlının ilk erginlerinin 13.05.2022 tarihinden itibaren görülmeye başlamış olduğu, ergin popülasyon yoğunluğunun 17.06.2022 ve 22.07.2022 tarihlerinde maksimum noktaya ulaştığı belirlenmiştir. Bu verilerden zararlının Kayseri şartlarında yılda 2 döl verebileceği sonucuna ulaşılmıştır. Yabaş ve Ulubilir (1992), Gaziantep'in merkez ilçelerinde ve Kilis'te Nohut yapraksineğinin popülasyon durumu ve bulaşıklık oranlarını incelemiştir. Çalışma sonunda zararlının nohut bitkisinin ekiminden hasata kadar tarlada bulunduğunu, ergin sayısının en yoğun olduğu zamanın ise çiçeklenmenin en fazla olduğu Mayıs ayı sonlarına denk geldiğini tespit etmişlerdir. Giray (1971), Çıkman (2006) ve Zengin ve Hayat (2016) ülkemizde yaptıkları araştırmalarda söz

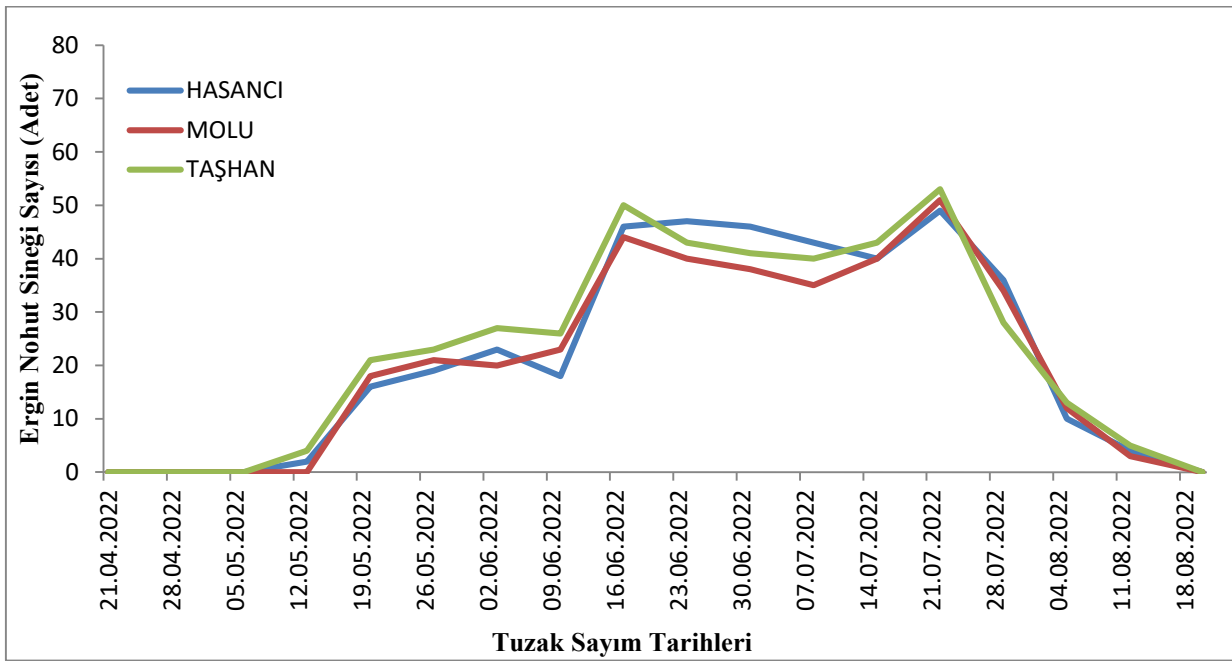
konusu zararlının yılda 2 döl verdiğini, Lahmar ve Zeouienne (1990) ile Banita vd. (1992) ise uygun konukçu ve iklim koşullarında *Liriomyza cicerina*'nın yılda 2-4 döl verdiğini bildirmişlerdir.

Şekil 1-4 incelendiğinde, *L. cicerina* erginlerinin mayıs ayının ikinci haftasından itibaren çıkmaya başladıkları ve nohut bitkisinin yapraklarında larvaların görülmesinin mayıs ayının son haftasında olduğu tespit edilmiştir. Ergin popülasyonu, birincisi 17.06.2022 tarihinde haziran ayı ortasında nohut bitkisinin çiçeklenme döneminde, ikincisi ise 22.07.2022 tarihinde temmuz ayı 3. Haftasında, nohut bitkisinin bakla döneminde olmak üzere, iki kez en yüksek yoğunluğa ulaşmıştır. *L. cicerina*'nın ilk larvaları, nohut bitkisinde erginlerin görüldüğü tarihten 11 gün sonra tespit edilmiştir. Popülasyon takibi için tuzak asmış olduğumuz ilçeler birbirinden farklı lokasyonlarda olsa da, zararlının biyolojisi tüm lokasyonlarda benzerlik göstermiştir.



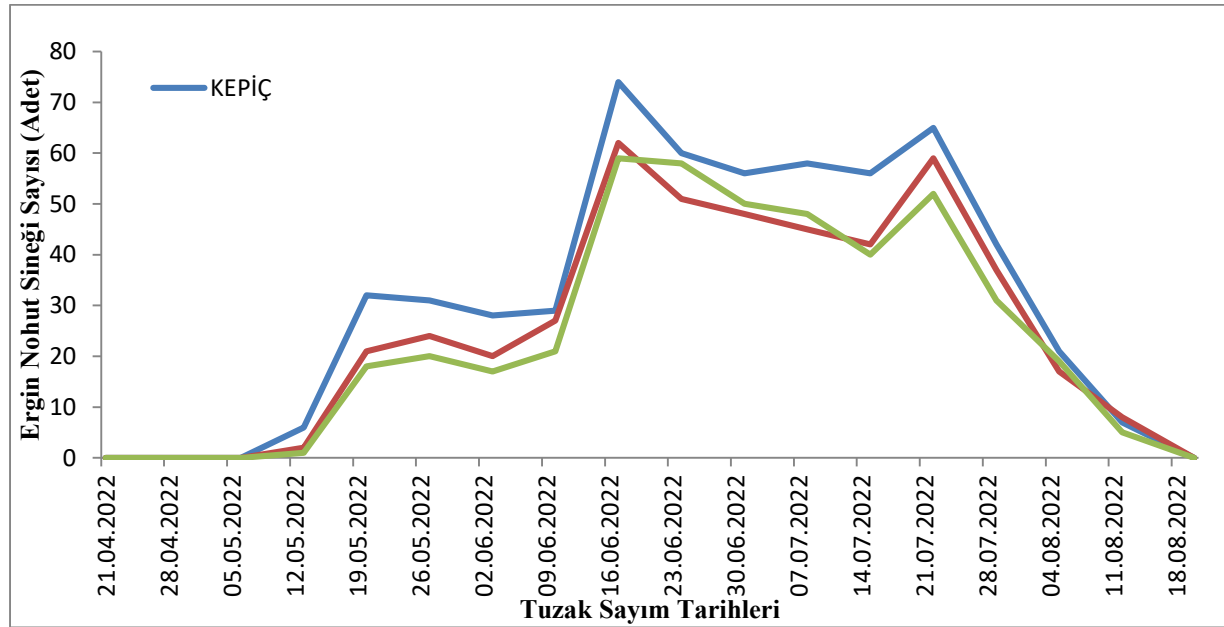
Şekil 1 Bünyan ilçesi *Liriomyza cicerina* ergin popülasyon dalgalanması.

Figure 1. *Liriomyza cicerina* adult population fluctuation in Bünyan district



Şekil 2. Kocasinan ilçesi *Liriomyza cicerina* ergin popülasyon dalgalanması

Figure 2. *Liriomyza cicerina* adult population fluctuation in Kocasinan district

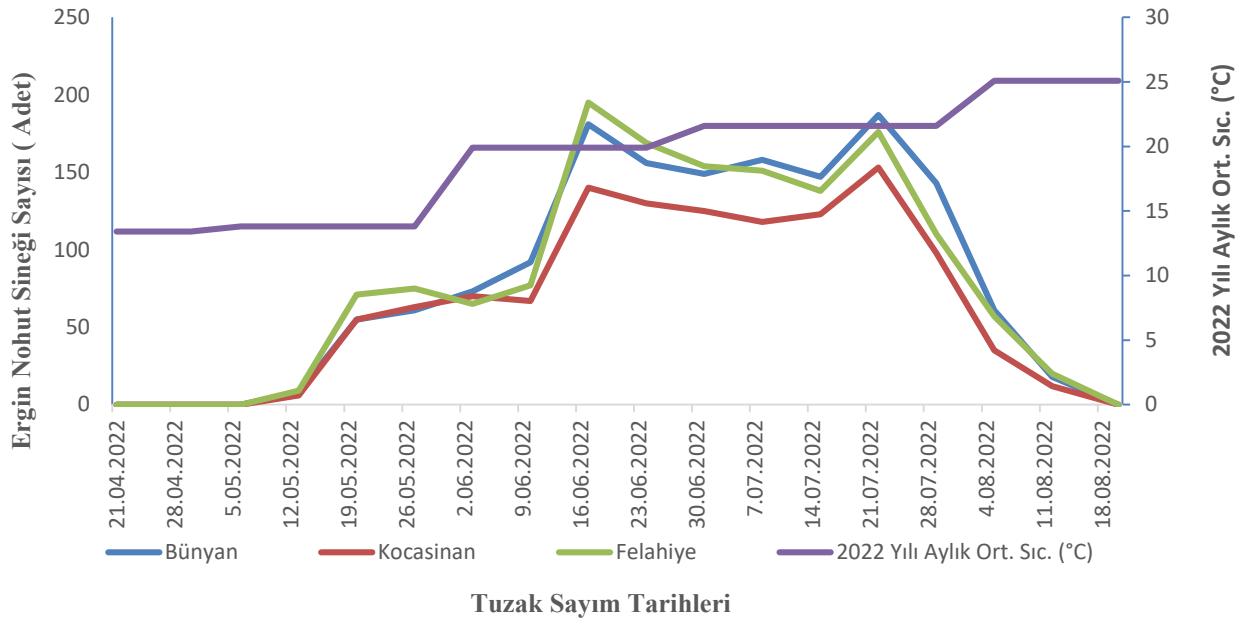


Şekil 3. Felahiye ilçesi *Liriomyza cicerina* ergin popülasyon dalgalanması

Figure 3. *Liriomyza cicerina* adult population fluctuation in Felahiye district

Zararlıının biyolojisi bitki fenolojisi ile birlikte ilerlediğinden dolayı, birbirine benzer tarihlerde ergin sayılarında artışlar gözlemlenmiştir. Çıkmam (2006), Şanlıurfa'da yaptığı çalışmada ergin popülasyonunun mayıs ayı başı ve sonunda, Zengin ve Hayat (2016) ise Uşak'ta yaptıkları çalışmada mayıs ayının son haftası ve haziran ayının 3. haftası

olmak üzere 2 kere ergin popülasyonunun maksimum seviyeye çıktığını tespit etmişlerdir. Bulduğumuz sonuçlar ile daha önceki araştırmalar arasındaki zamansal farklılıkların, farklı bölgelerdeki farklı iklim şartlarından dolayı ortaya çıktığı düşünülmektedir.



Şekil 4. Kayseri ili *Liriomyza cicerina* ergin popülasyon dalgalanması

Figure 4. *Liriomyza cicerina* adult population fluctuation in Kayseri province

## Sonuç ve Öneriler

*Liriomyza cicerina*, nohut bitkisinde antraknoz hastalığından sonra verim kayıplarına yol açan en önemli etken konumunda olan, nohut bitki gelişimini ve verimini azaltan önemli bir nohut zararlısıdır. Literatürde *L. cicerina*'nın bitkide meydana getirdiği zarar oranının, popülasyonun yoğunluğuna, iklimsel şartlara bağlı olarak %40 seviyelerine ulaşabileceği bildirilmiştir (Toker vd., 2010). Bu çalışmada, Kayseri'deki nohut ekimi yapılan ilçelerin tamamında zararlının bulunduğu, bulaşıklık oranının ilçelere göre %42 (Sarız) ile %76 (Felahiye) arasında değiştiği belirlenmiştir. Yapılan ergin popülasyon takibi neticesinde zararlının Kayseri ilinde yılda 2 döl verdiği kanısına varılmıştır. Ayrıca, zararlının parazitoiti olarak larva-pupa parazitoiti *O. monilicornis* tespit edilmiştir.

Bu çalışma esnasında üreticilerle yapılan yüz yüze görüşmelerde, üreticilerin *L. cicerina*

hakkında çok fazla bilgi sahibi olmadıkları görülmüştür. Bu nedenle, üreticilere öncelikle nohut sineği ile ilgili gerekli bilgilerin aktarılması, bu çalışmadan elde edilen bilgiler ışığında zararlı ile mücadele de *O. monilicornis*'in de göz önünde bulundurulduğu bir entegre mücadele programı hazırlanarak uygulanması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma için etik kuruldan izin alınmasına gerek yoktur.

## Çıkar Çatışması Beyanı

Makale yazarları olarak aramızda herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederiz.

## Yazar Katkısı

Yazarlar araştırmanın planlanması, verilerin toplanması ve değerlendirilmesi, makale yazımı ve düzeltmelerinin yapılmasına eşit katkı

sunmuşlardır.

## Ekler

Bu çalışma, Ahmet ÖZKAN'ın Yüksek Lisans Tezinden üretilmiş olup 2023 yılında 5. International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences'da yayımlanmıştır.

## Kaynakça

- Banita, E., Mateias, M. C. and Luca, E., (1992). *Liriomyza cicerina* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae), daunator Important al Culturilor de Naut. Probl. Prot. Plant., 20: 25-37.
- Civelek, H. S., (2002). *Chromatomyia horticola* (Goureau, 1851) (Diptera: Agromyzidae) parazitoit faunası için yeni bir kayıt: *Pediobius metallicus* (Nees, 1834) (Hymenoptera: Eulophidae). Türkiye Entomoloji Dergisi, 26(2):155-159.
- Civelek, H.S., ve Önder F., (1997). Bitki hastalık etmenlerinin taşınmasında galeri sineklerinin (Diptera: Agromyzidae) rolü üzerinde bir inceleme. Türkiye Entomoloji Dergisi, 21(3):233-241.
- Croser, J. Clarke, H. Siddique, K. H. M and Khan, T. (2003). Low-Temperature Stress: Implications for Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Improvement. Critical Reviews in Plant Sciences, 22(2):185-219.
- Çıkman, E., 2006. Şanlıurfa İlinde nohutta zararlı olan *Liriomyza cicerina* L. (Rondani, 1875)'nin popülasyon gelişmesi. Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 10 (1/2): 1-6.
- Giray, H., (1971). *Liriomyza cicerina* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae)'nin Morfolojik Karakterleri, Kısa Biyolojisi ve Zarar Şekli Üzerinde Araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 171, Bornova, 34 s.
- Hepdurgun, B. Civelek, H. S. Turanlı, T. and Dursun, O.(2007). Türkiye Agromyzidae (Diptera) faunasına katkılar. Türkiye Entomoloji Dergisi, 31 (2): 153-159.
- Hıncal, P., Yaşarakıncı, N. ve Hepdurgun, B., (1996). Ege Bölgesi'nde Nohut yapraksineği [*Liriomyza cicerina* (Rond.)]'nin larva-pupa parazitoiti olan *Opius monilicornis* Fischer (Hym.: Braconidae)'in parazitlenme oranının belirlenmesi üzerinde çalışmalar. Bitki Koruma Bülteni, 36 (1-2): 17-23.
- Kaplan, M., (2008). Azadirachtin ve Cyromazine Preparatlarının Nohutta Zararlı Olan *Liriomyza cicerina* (Rondani) (Diptera: Agromyzidae) Larvalarına

Etkisinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi) Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.

- Ladizinsky, G. and Adler, A. (1976). Genetic relationships among the annual species of *Cicer* L. Theoretical and Applied Genetics, 48(4):197-203.
- Lahmar, M. and Zeouienne, M., (1990). Bio-ecological data and importance of damage of chickpea leaf miner (*Liriomyza cicerina* Rond) in Morocco. Al Awamia, 72: 108-118.
- Özkan, A. & Muştu, M. (2023) Kayseri İli Nohut Ekim Alanlarında Nohut Yapraksineği [*Liriomyza cicerina* Rondani (Diptera: Agromyzidae)]'nin Yaygınlığı, Bulaşıklık Oranı ve Popülasyon Dalgalanması," 5 th International Conference on Applied Engineering and Natural Sciences , Konya, Turkey, pp.325, 2023.
- SAS 8.0, (2014). SAS User's Guide: Statistic. Statistical Analysis Systems Institute Inc., Cary, NC.
- Singh, K. B., (1997). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). Field Crops Research, 53: 161-170.
- Smithson, J.B. Thompson, J.A. and Summerfield. R.J. (1985). Chickpea (*Cicer arietinum* L.). In: R.J. Summerfield and E.H. Roberts (eds.), Grain legume crops. Collins, London, UK, pp. 312-390.
- TAGEM (2017) Nohut Entegre Mücadele Teknik Talimatı <https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/Entegre/nohut%20entegre.pdf> (Erişim Tarihi 22.11.2022)
- Toker, C. Erler, F. Çancı, H. and Ceylan, F.O. 2010. Severity of leaf miner (*Liriomyza cicerina* Rond.) damage in relation to leaf type in chickpea. Turkish Journal of Entomology, 34(2):211-226.
- TÜİK (2022). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr> (03.4.2023 erişim tarihi)
- Weigand, S. and Tahhan, O. (1990). Chickpea insect pests in the Mediterranean zones and new approaches to their management. Proceedings of the Second International Workshop on Chickpea Improvement, Patancheru, India, pp.169-175.
- Yabaş, C. ve Ulubilir, A., (1992). Gaziantep yöresinde Nohut yapraksineği (*Liriomyza cicerina* Rond.)'nin bulaşma oranları ve erginlerinin popülasyon değişimi üzerinde araştırmalar. Bitki Koruma Bülteni, 32 (1-4): 43-47.
- Zengin, E. ve Hayat, R. (2016). Uşak İli Nohut Ekim Alanlarında Nohut Yapraksineği [*Liriomyza cicerina* (Rondani, 1875) (Diptera: Agromyzidae)]'nin Biyolojisi ve Bulaşıklılık Oranının Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 20(2): 354-358



# Düşük Nem Koşullarına Adapte Yerli Entomopatojen Fungus İzolatının *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae) Üzerindeki Etkinliği

## Effectiveness of Native Entomopathogenic Fungus Isolate Adapted to Low Humidity Conditions on *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae)

Mehmet Sedat SEVİNÇ<sup>1\*</sup> , Nuran KARATAĞ<sup>2</sup> , Mesut ALTINDAL<sup>3</sup> 

<sup>1-2</sup> Bitki Sağlığı Bölümü, Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Eğirdir, Isparta, Türkiye

<sup>3</sup> Bitki Sağlığı Toprak ve Su Kaynakları Bölümü, Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Eğirdir, Isparta, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-9517-7631>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-4648-8227>; <sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0332-6677>

### To cite this article:

Sevinç, M.S., Karatağ, N. & Altındal, M. (2024). Düşük Nem Koşullarına Adapte Yerli Entomopatojen Fungus İzolatının *Tenebrio molitor* (Coleoptera:Tenebrionidae) Üzerindeki Etkinliği. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4):593-603

DOI: 10.29050/harranziraat.1530026

### \*Address for Correspondence:

Mehmet Sedat SEVİNÇ

e-mail:

mehmetsedat.sevinc@tarimorman.gov.tr

### Received Date:

09.08.2024

### Accepted Date:

28.10.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ÖZ

Düşük nemli ortamlarda özellikle depolama koşullarında yapılacak olan mücadele için düşük nemde virülensliğini sürdüren fungus izolatları elde etmek önemlidir. Bu çalışmada; standart toprak analizi yapılmış toprak örneklerinin, *Tenebrio molitor* kullanılarak düşük toprak nemi koşullarında virülensliğini sürdüren entomopatojen fungus izolatı elde etmek amaçlanmıştır. Bu kapsamda incelenen 16 toprak örneğinde, düşük bağıl nemde toprak nemi artırılmadan 4 toprak örneğinde fungal gelişim görülmüştür. Morfolojik tanılama sonucu; *Beauveria bassiana*, *Cordyceps fumosorosea* ve iki adetinin de *Metarhizium anisopliae* türü olduğu görülen izolatların, *Tenebrio molitor* larvaları üzerinde petri kaplarında biyoassay çalışmaları ile %100 ölüme sebep olduğu görülmüştür. Kadavra üzerinde misel gelişimi görülen *Beauveria bassiana* izolatı, plastik kaplarda steril toprak koşullarında 5 farklı spor yoğunluğunda denenmiş;  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$  konidi  $ml^{-1}$  dozları 9. günde sırasıyla; %60, %23.34, %19.34, %12.15 ve %14.17 bulunurken, 18 gün sonunda ise bu oranlar; %64, %43.34; %19.34; %15.72 ve %14.17 olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubunda ölüm oranı; %0' dır. Elde edilen izolatın  $10^8$  konidi  $ml^{-1}$  ve daha yüksek yoğunlukta kullanımının gıda depolama gibi düşük nem koşullarında yapılacak diğer çalışmalar için önemli bir potansiyeli olduğu ve detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Cordyceps*, *Beauveria*, *Metarhizium*, Ölümcül etkiler, Virülenslik

### ABSTRACT

Especially for pest management in low humidity environments such as storage conditions, it is of great importance to obtain entomopathogenic fungal isolates that can maintain their virulence despite low humidity conditions. In this study; It was aimed to obtain entomopathogenic fungus isolate that maintains its virulence at low soil moisture conditions using *Tenebrio molitor* from soil samples that have undergone standard soil analysis. In this context, fungal growth was observed in 4 soil samples without increasing the soil moisture at low relative humidity in 16 soil samples examined. As a result of morphological identification; It was observed that the isolates, which were found to be *Beauveria bassiana*, *Cordyceps fumosorosea* and two *Metarhizium anisopliae* species, caused 100% mortality on *Tenebrio molitor* larvae in petri dishes with bioassay studies. *Beauveria bassiana* isolate, on which mycelial development was observed on cadavers, was tested at 5 different spore densities in sterile soil conditions in plastic containers; On the 9th day;  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$  conidia  $ml^{-1}$  doses were found to be 60%, 23.34%, 19.34%, 12.15% and 14.17%, respectively, while at the end of 18 days these rates were determined as 64%, 43.34%, 19.34%, 15.72% and 14.17%. The mortality rate in the control group was 0%. It is

thought that the use of the isolate obtained at  $10^8$  conidia  $ml^{-1}$  and higher densities has an important potential for other studies to be conducted in low humidity conditions such as food storage and that detailed studies are needed.

**Key Words:** *Cordyceps*, *Beauveria*, *Metarhizium*, Lethal effects, Virulence

## Giriş

Biyçeşitlilik tepkileri; su, sıcaklık, ışık ve su gibi organizmaların gelişimini kontrol eden temel (Harvell ve ark., 2002, Rosenzweig ve ark., 2001) çevresel parametrelere bağlı olarak değişebilir (Lepetz ve ark., 2009). Son yıllarda artan iklim değişikliği (Wang ve ark., 2009) türler arası ilişkilerde değişikliklere (Lepetz ve ark., 2009) dolayısıyla gıda kaynaklarında azalma ve mikrobiyal veya toksik kirleticilerin artışına yol açabilir (Hall ve ark., 2002). Modern tarımın üstesinden gelmesi gereken kritik zorluklar temelde; iklim değişikliğinin azaltılması ve buna uyum sağlanması (Morales-Ramos ve ark., 2024) olarak düşünülmektedir. Bu değişime bağlı olarak eklem bacaklıların zararları tarım ve ormancılık alanlarında önemli ölçüde artmaktadır (Savary ve ark., 2019). İklim değişikliğinin insektisit kullanımını ve ürünlerdeki kimyasal kalıntı oranını etkileme ihtimali; böcek zararlılarının genişleyen dağılımı, daha fazla çeşitlilikte insektisit artan oran ve sıklıkta kullanılmasını teşvik ederken, aynı zamanda direnç geliştirme olasılığını da artırabilir (Delcour ve ark. 2015). Birim alandan yüksek verim almak ve depolanan ürünleri de korumak amacıyla artan mücadele çabalarında, son yıllarda kimyasalların olumsuzluklarının ortaya çıkardığı sonuçlar (Zettler ve Arthur, 2000; Ayvaz ve ark., 2008; Berber Tortop & Yorulmaz, 2024) alternatif mücadele arayışını beraberinde getirmektedir. Bu alternatif mücadele kapsamında entomopatojen fungus (EPF) türleri ile tarımsal zararlıların mücadelesi konusunda da yapılan araştırmalar hız kazanmıştır. EPF'ların çoğunluğu doğadaki böcekler için patojeniktir (Shah ve Pell, 2003; Scholte, 2004; Vega; 2009; Dash ve ark., 2018). Zararlı popülasyonunu en aza indirmek için konukçularını enfekte etmede yüksek etkinlik sergileyen EPF'lar, özellikle de hipokrealean askomisetler, konidiaları ile kütiküle yapışır, çimlenir, böcek hemoselinin içinde gelişir ve son

olarak besin tükenmesi ve iç doku ve organların istila edilmesi ve/veya böcek öldürücü etkili proteinlerin ve/veya ikincil metabolitlerin salgılanması nedeniyle konukçunun ölümüne neden olur (Vega ve ark. 2012). Günümüzde, *Metarhizium Sorokin*, *Cordyceps Fr.*, *Beauveria Vuill* (Ascomycota: Hypocreales) cinslerindeki türler ticari biyopestisit geliştirilmesinde rol almaktadır (Rath, 2000; Meyling ve ark., 2018; FAO/IAEA, 2019). Pek çok avantajlarına rağmen EPF'lar, kimyasal insektisitlere oranla daha geç öldürme, yüksek nem ihtiyacı, fungusitlerden olumsuz etkilenme, üretimi ve muhafazasının pahalı olması gibi dezavantajlara da sahip (Sevim ve ark., 2015) olmasının yanı sıra, iklim değişikliğinin, çevre koşulları, özellikle sıcaklık, nem ve UV-B radyasyonunun da mikrobiyal kontrol başarısını ciddi şekilde sınırlandırabildiği (Eilenberg, 2006) bilinmektedir. EPF'ların öldürme hızını iyileştirmekle birlikte güneş radyasyonu, düşük nem ve aşırı sıcaklık gibi olumsuz etkilerinin üstesinden gelmek için yeni yollar geliştirmek (Jackson ve ark. 2010; Jaronski, 2010) gerekliliği araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır. Bu nedenle, entegre mücadele kapsamında EPF'ların kullanımı hedef alındığında, uygulama sonrası karşılaşılması muhtemel olan çevre koşullarında da etkinliğini gösterebilme yeteneğine sahip izolatların seçimi için yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu durum hem yerel izolatların elde edilmesinde hem de seçim esnasında bazı olumsuzluklara direnç göstermiş izolatların kabulünde önem arz edebilmektedir. Bu çalışmada; 2023 yılında Meyvecilik Araştırma Müdürlüğüne standart toprak analizi amacıyla getirilen topraklardan elde edilen numunelerin, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) bireyleri üzerinde düşük nem koşullarında virülenslikleri araştırılmış ve enfekte olan böceklerden EPF izolasyonu yapılarak morfolojik tanılamaları ardından tekrar *T. molitor* üzerinde yüzde ölüm oranları hesaplanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### *Tenebrio molitor* kitle üretimi

Entomopatojen fungusların varlığı ve etkinliklerinin tespiti amacıyla Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü 25°C, %60±5 nem ve 16:8 (aydınlık/karanlık) koşullara sahip iklim odalarında stok kültürde bulunan *Tenebrio molitor* larvalarından faydalanılmıştır. 25x40x10 cm ölçülerinde plastik küvetlerde buğday kepeği ve elma dilimleri ile yapılan rutin üretimde son dönem ve son döneme yakın larvalar denemede kullanılmak üzere ayrılmıştır.

### *Toprakların hazırlanması ve larva üzerinde fungal enfeksiyonlarının takibi*

Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğüne toprak besin elementi analizi için getirilen topraklardan 16 adeti denemede kullanılmak üzere tesadüfi seçilmiştir. Yaklaşık 2000 g toprak herhangi bir işleme tabi tutulmadan 22±5°C' de, %30±5 nem koşullarında muhafaza edilmiştir. Topraklar, laboratuvar ortamında 2000 cc'lik plastik sızdırmaz kaplara kabın yarısı dolacak şekilde alınmıştır. Nem ve sıcaklık artışını önlemek amacıyla kapların kapakları kesilerek pencere oluşturulmuş ve tül ile kapatılmıştır. Uzun süre kuru hava koşullarında bekletilen numuneler deneme başlangıcında yüzeye 3 ml saf su el spreyi yardımıyla uygulanmıştır. Her bir plastik kabın içerisine son dönem ve son döneme yakın olduğu bilinen *T. molitor* larvaları her kaba 30 adet eklenmiştir. Bu süreçte larvalara gıda verilmemiştir ve durumları 22±5°C' de, %30±5 bağıl nem koşullarında 120 gün boyunca takip edilmiştir. Düşük neme toleranslı izolatları elde etmenin bir yolu olarak bu çalışmada inkübasyon süresince toprak; oda sıcaklığı ve literatüre göre %10 kabul edilen hava kuru toprak nemi (TSE, 1990) koşullarında tutulmuştur. 10-14 gün içerisinde larvalar üzerinde miselyum gelişen toprak örnekleri ilk aşamadan sonra tekrar nemlendirilmemiştir. Bu süreçte EPF'ların gelişimi görülmeyen toprak örneklerinde yüksek nemde çimlenebilen EPF'ların varlığını teyit etmek amacıyla deneme süresince ilk 14 günden sonra 7

gün ara ile 15±3 ml saf su ile nemlendirilmiştir. Fakat denemede kullanılmak üzere düşük toprak nemi koşullarında virülensliğini sürdürme kapasitesine sahip olduğu düşünülen ilk funguslar kayıt altına alınmış diğerleri deneme dışı bırakılmıştır.

### *Entomopatojen fungus izolasyonu ve morfolojik tanılama*

Steril kabinde yürütülen çalışmalarda üzerinde fungus miselleri geliştiği görülen larvalar kullanılmıştır. Misel gelişimi görülen bu larvalar toplanarak, 5 sn %70'lik etil alkolde 5 sn %5'lik sodyum hipoklorit'te, sonra 3 defa steril saf sudan geçirilerek steril kurutma kağıtları üzerinde fazla suyun emilmesi için bırakılmıştır. Kuruyan larvalar PDA besiyerine aktarılmış ve petrinin üzerlerine toprağın numune kodu yazılarak kaydedilmiştir. Yaklaşık 3 -4 gün sonra larvanın etrafında gelişen misellerden kesitler alınarak saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiş ve bu işlem saf koloni oluşturuncaya kadar devam etmiştir.

Entomopatojen fungusların morfolojik tanısı; fungus ile enfekte olmuş larvaların dış görünüşleri, PDA üzerindeki koloni rengi, miselyal gelişme hızı ve şekli esas alınmış, mikroskopik tanılamada ise hif, konidifor ve konidiaların şekil, renk ve büyüklükleri ile ilgili literatür kullanılarak yapılmıştır (Samson, 1974, Samson et al, 1988; Humber, 1997; Humber, 1998; Eken, 2011). Tanısı yapılan kültürler -80°C de %20'lik gliserol içinde saklanmıştır.

### *Spor süspansiyonlarının hazırlanması*

Üretim amacıyla yeni PDA besiyerlerine aktarılan EPF'ların gelişimleri oda sıcaklığında 10-14 gün süreyle takip edilmiştir. Bu süre sonunda izolatlar ait sporlar öze yardımıyla saf su içerisine kazınarak homojen dağılımının sağlanması için % 0.1 oranında Tween 80 ilave edilerek konidiospor süspansiyonu hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar mikroskop altında Thoma lamı yardımıyla konidiospor sayıları belirlenmiş ve 1x10<sup>8</sup> konidi ml<sup>-1</sup> spor yoğunluğunda tüm izolatların dozları oluşturulmuştur.

### *İzolatların etkinliklerinin belirlenmesi*



Düşük nem koşullarında *T. molitor* üzerinde 7-10 gün arasında gelişme yeteneği bulunan ve PDA besi ortamında çoğaltımı sağlanan dört izolatin biyoassay çalışmaları petri kaplarında *T. molitor* larvaları üzerinde gerçekleştirilmiştir.  $1 \times 10^8$  konidi  $\text{ml}^{-1}$  spor yoğunlukları petri kaplarına yerleştirilmiş olan filtre kağıtları üzerine el spreyi yardımıyla 2 ml miktarda uygulanmıştır. Kontrol grubuna %0.1 tween 80 içeren su püskürtülmüştür. Her bir fungus tür ve izolatları için deneme 10 tekerrürden oluşmuş ve tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur. Nem artışından kaçınmak üzere petri kaplarının kapaklarına 1 mm boyutlarında 10 adet delik açılmış ve larva aktarımından önce filtre kağıtlarının tamamen kuruması beklenmiştir. Filtre kağıtları kuruduktan sonra her bir petriye 10 adet larva eklenmiş ve aşıktan ölümlerin önüne geçmek üzere toprak örneklerinden ilk izolasyon için yapılan çalışmanın aksine elma parçaları eklenmiştir. Her bir petri kabı bir tekerrür olmak üzere, 10 tekerrürle yürütülen denemelerin takibi  $22 \pm 5^\circ\text{C}$  de,  $\%30 \pm 5$  bağıl nem ve 16:8 saat (aydınlık:karanlık) koşullara sahip laboratuvar ortamında gerçekleştirilmiştir. Denemeler 30 gün takip edilmiştir. Üzerinde misel gelişimi görülen izolatin farklı dozları toprak ortamında da *T. molitor* larvaları üzerinde denemek üzere seçilmiştir. Ayrıca; ölümlerin uygulanan entomopatojen fungustan meydana geldiğini doğrulamak için ölü bireylerden teyit amacıyla reizolasyon yapılmıştır.

#### *Steril toprak üzerinde denemelerinin kurulması*

Eğirdir Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü fidan ve fide dikiminde kullanılan topraklar toprak analiz laboratuvarından alınan numune örnekleri gibi analize tabi tutulmuştur. Bu toprak grubu canlı mikroorganizma barındırma ihtimaline karşı 48 saat süresince  $105^\circ\text{C}$ 'ye ayarlı etüv cihazında sterilizasyona tabi tutulmuştur. Ayrıca denemenin düşük nem amacını karşılamasına yönelik 'fırın kuru toprak' olarak ifade edilen toprak neminin %0 olması sağlanmıştır (TSE, 1990). Denemede kullanılmak üzere kapağı kesilerek tül ile kapatılmış 2000 cc'lik

plastik sızdırmaz kaplar 3 cm yükseklik oluşturacak şekilde topraklarla doldurulmuştur. Seçilen izolatin 5 farklı dozu ve kontrol grubu için, 5 tekerrürlü olacak şekilde, 30 adet plastik sızdırmaz kap hazırlanmıştır. Seçilen izolatin  $10^8$ ,  $10^7$ ,  $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$  konidi  $\text{mL}^{-1}$  spor yoğunlukları ve kontrol grubunda ise saf su ve tween 80 karışımı 3 ml ölçülerek el spreyi ile 20 cm uzaklıktan uygulanmıştır. Topraklarda spor süspansiyonu uygulaması sonrasında oluşan az miktarda nemliliğin tamamen kuruması beklenmiştir. Aşıktan ölmelerin önüne geçmek üzere hazırlanan elma küpleri ve az miktarda buğday kepeği kutunun merkezine yerleştirilmiştir ve seçilen 20 adet son dönem ve son döneme yakın *T. molitor* larvası toprak yüzeyine bırakılmıştır. Deneme  $22 \pm 5^\circ\text{C}$ , bağıl nemi  $\%30 \pm 5$ 'e ayarlı uzun gün aydınlatmalı 16:8 saat (aydınlık:karanlık) koşullara sahip iklim odalarına bırakılmıştır. 30 gün süresince günlük ergin çıkışları kontrol edilmiştir ve kayıt altına alınmıştır. Denemeler 5 tekerrürlü, tesadüf parselleri deneme desenine göre kurulmuştur.

#### *Verilerin değerlendirilmesi ve analizi*

Larvalarda görülen ölüm oranları (%) her bir doz için hesaplanmıştır. Daha sonra ortalamalar arasındaki farkı belirlemek için Tukey çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır ( $P < 0.05$ ). İstatistiksel analizler SPSS version 23.0 paket programı yardımıyla gerçekleştirilmiştir (IBM Corp., 2010).

#### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

##### *Düşük bağıl nemde virülans olan EPF'ların bulunduğu toprak kimyasal bileşenleri*

Entomopatojen fungus izolatu elde edilmiş toprakların, saturasyon, tuzluluk, pH, kireç, organik madde, potasyum oranları gibi parametrelerin yüzdelik ve ppm cinsinden değerleri, mevkisi, üretim deseni ve numunelerden izole edilen entomopatojen fungus türü Çizelge 1.'de gösterilmektedir. Saflaştırma sonucu yapılan morfolojik gözlemlerde elde edilen izolatlardan 91 kodlu toprak örnekten

(saturasyon: %55, potasyum: 659 ppm, organik madde: %1.46) *Beauveria bassiana*, 87 kodlu (saturasyon: %57.2, potasyum: 378 ppm, organik madde: %1.32) ve 90 kodlu (saturasyon: %59.4, potasyum: 370 ppm, organik madde: 1.25) elma yetiştiriciliği yapan Karaman'dan alınan toprak örneklerinden *Metarhizium anisopliae*, ve 49 kodlu (saturasyon: % 69.3, potasyum: 466 ppm, organik madde: %3.18) organik yağlık gül yetiştiriciliği yapılan Gökçehöyük toprak numunelerinden ise; *Cordyceps fumosorosea* türü fungus izolatu elde edilmiştir (Çizelge 1).

115, 116, 117 kodlu toprak örneklerinde toprağın 1 hafta arayla 4 ila 5 kez, yaklaşık 15 ±3 ml saf su ile ıslatıldıktan sonra larvaların ölümüne sebep olacak EPF'ların geliştiği tespit edilmiştir. Toprak analizleri sonucu elma üretimi yapılan bu toprakların sırasıyla saturasyon; %60.5, 66, 67.1 oranında; potasyum; 688, 616, 308 ppm oranında; organik madde; %3.38, 4.78 ve 2.23 oranında bulunduğu görülmüştür. 115 kodlu topraktan, *B. bassiana* ve *M. anisopliae*, 116 kodlu topraktan *B. bassiana*, 117 kodlu topraktan ise *M. anisopliae* türüne ait olduğu görülen EPF elde edilmiş fakat düzenli nemli koşullar sağlanması sonucu gelişim gösterdikleri için biyoassay çalışmalarına dahil edilmemiştir.

Daha önceki çalışmaların büyük bir kısmı da Dünya üzerinde geniş bir alana yayılan benzer fungus türlerinin izolasyonundan bahsetmektedir (Keskin ve ark., 2019; Baki ve ark., 2020; Qayyum ve ark., 2021). Toprakta entomopatojen fungal oluşumunun, organik madde, özellikle C/N oranı, farklı lokasyonlardaki topraklarda EPF'ların başlıca öngörücüleri (Quesada-Moraga ve ark. 2007; Uzman ve ark. 2019; Fernandez-Bravo ve ark. 2021) olduğu ifade edilmektedir. Örneğin; Kılıç, (2021) Erzincan ilinde EPF'ların toprak parametrelerine göre dağılımına yönelik yaptığı bir çalışmada; kullandığı toprakların pH 'nın 6.69-

7.77 oranında değiştiği ve fungus yoğunluğunun asidik ortamlarda bazik ortamdan daha da dirençli olduğuna vurgu yapmaktadır (Foth, 1984). Bu çalışmada kullandığımız toprakların tamamına yakını analiz sonucunda 'hafif alkalın' değerinde bazıları ise nötr (7.5) bulunmuştur. Kireçli topraklar içeriğinde kil, kum, kireç bulundurması ve kilin entomopatojen fungusların toprakta varlığını ve sayısını artırdığı, küçük konidialara sahip fungusların toprakta daha fazla sayıda bulunmasını sağladığı (Quesada-Moraga ve ark. 2007) rapor edilmiştir. Topraklarımızdan 87 ve 89 numaralı numunelerin kireç oranlarının çok daha yüksek olması ve düşük nem koşullarında izole edilen 2 fungusun da *M. anisoplia* olması bu türün çevresel istekleri yönüyle de literatüre paralel olmakla birlikte, araştırmaları derinleştirmek gerekliliğini göstermektedir (Çizelge 1). Çalışmamızda 91 kodlu numunenin organik madde miktarı 1.46 ve kireç oranı diğerlerinden çok daha düşüktür. Bu numuneden izole edilen *B. Bassiana* türü ile ilgili olarak geniş bir alanda toleranslı bir şekilde yaşadığı ifade edilmekte ve hem arazi dışı hem de ekili topraklarda yaşayan bir tür olduğu, *M. anisopliae* 'nın ise ekili toprak alanlarında yaşamını sürdürme yeteneğinde olduğu tespit edilmiştir (Quesada-moraga ve ark., 2007; Jarmuł-Pietraszczyk ve ark., 2011; Medo ve Cagaň, 2011; Keyser ve diğerleri, 2015). Kireçli toprakta nem tutma kapasitesinin yüksek olması, ayrıca ekili alanda bitki yaprak ve çevresinde tutulan nem oranının yüksek olması (Quesada-Moraga ve ark., 2024) *M. anisoplia*'nın daha yüksek nemli ortam da daha işlevsel olabileceğine işaret ediyor olabilir. Bununla birlikte önceki çalışma da fungus türü oluşumu ve dağılımının potasyum ve toprak saturasyonu ile ilişkili olduğunu rapor etmiştir (Kılıç, 2021). Çalışmada EPF izolasyonu gerçekleştirilen toprak numuneleri yüksek ve çok yüksek potasyum içeriğine sahiptir.

Çizelge 1. Denemede kullanılan toprak numunelere ait bilgiler.

Table 1. The information on soil samples used in the experiment.

Toprak kodu	Saturasyon (%)	Tuzluluk (%)	pH	Kireç (%)	Organik Madde (%)	Potasyum (ppm)	Mevki	Ürün deseni
Soil code	Saturation (%)	Salinity (%)	pH	Lime (%)	Organic Matter (%)	Potassium (ppm)	Location	Product pattern
46	72.6	0.022	7.9	18.68	0.81	252	Gökçeşüyük	Yağlık gül
47	63.8	0.029	7.6	5.69	1.69	383	Gökçeşüyük	Yağlık gül
48	46.2	0.012	7.1	3.25	2.80	311	Gökçeşüyük	Yağlık gül
49*	69.3	0.023	7.7	5.69	<b>3.18</b>	466	Gökçeşüyük	Yağlık gül
50	68.2	0.030	7.8	17.06	3.20	292	Gökçeşüyük	Yağlık gül
51	75.9	0.031	7.7	5.69	3.47	327	Gökçeşüyük	Yağlık gül
86	68.2	0.024	7.2	1.69	1.71	442	Sorkuncak	Elma
87**	57.2	0.019	7.8	50.27	<b>1.32</b>	378	Karaman	Elma
88	56.1	0.018	7.9	51.09	0.98	268	Sorkuncak	Elma
89	55	0.019	7.9	57.75	1.60	450	Karaman	Elma
90**	59.4	0.022	7.9	59.4	<b>1.25</b>	370	Karaman	Elma
91***	55	0.021	7.5	2.43	<b>1.46</b>	659	Kozluçay	Yonca
92	50.6	0.018	7.2	1.62	1.24	296	Kozluçay	Mısır
115****	60.5	0.014	7.4	10.32	3.38	688	Eğirdir-Merkez	Elma
116****	66	0.021	7.4	8.33	4.78	616	Eğirdir-Akdere	Elma
117****	67.1	0.015	7.5	12.30	2.23	308	EğirdirSarıhasan	Elma

(\* ) *Cordyceps fumosorosea* izole edilen numune, (\*\* ) *Metarhizium anisoplia* izole edilen toprak numuneleri, (\*\*\*) *Beauveria bassiana* izole edilen toprak numunesi, (\*\*\*\*) Uzun süre toprak nemi sağlanması sonucu entomopatojen fungus çimlenmesi görülen ve deneme dışı tutulan toprak numuneleri

(\* ) The soil sample isolated which *Cordyceps fumosorosea*, (\*\* ) the soil sample isolated which *Metarhizium anisoplia*, (\*\*\*) the soil sample isolated which *Beauveria bassiana*, (\*\*\*\*) the soil samples in which entomopathogenic fungi germinated as a result of long-term soil moisture provision and were excluded from the experiment.

Bu çalışmada sadece düşük bağıl nem (%30±5) ve hava kuru toprak nemi (%10 nem) koşullarında enfeksiyona sebep olan toprak örnekleri izlenmiştir. Bu sebeple 16 toprak örneğinin 9'unda larval ölümlerin hiç birisi fungal sebeplerle olmaz iken geri kalan 7 toprak örneğinden 3'ünde (115-116-117 kodlu toprak örnekleri) daha yüksek toprak nemi sağlanarak EPF varlığı tespit edilmiştir. Diğer toprak örneklerinde larvalar denemenin 105. gününe kadar yaşamlarını sürdürmüşlerdir. Çalışmanın bundan sonraki kısmında 7-14 gün arasında enfeksiyona sebep olan EPF ile çalışmalara devam edilmiştir.

#### Petri kaplarında yürütülen biyoassay denemeleri

Tüm izolatların  $1 \times 10^8$  konidi  $ml^{-1}$  dozları *T. molitor*'un larvaları üzerinde %100 ölüme sebep olmuştur. Kontrol grubu ise %100 yaşamaya devam etmiştir. Bu sebeple başarı kriteri olarak fungal miselyumun böcekler üzerinde görülmesi baz alınmıştır ve bu durum yalnızca 'yonca tarlası' toprak örneklerinden izole edilmiş olan *B. bassiana* izolatında görülmüştür.

Daha önceki çalışmalar *B. Bassiana*'nın farklı

oranlarda *T. molitor* üzerinde etkili olduğunu göstermiştir (Rodríguez-Gómez ve ark., 2009; Keskin ve ark., 2019). %93-96,5 bağıl nemin fungal gelişim için elzem olduğu ve nem faktörünün konidial çimlenme, kadavra üstünde saprobik büyüme ve spor üretmeyi etkilediği bilinmektedir (Fernández-Bravo ve ark. 2016 ; Jaronski, 2010 ; Vega ve ark. 2012). Fakat düşük nemde etkinliğinin görülmek istendiği çalışmamızda, düşük bağıl neme (%30±5) rağmen *B. bassiana* olduğu tespit edilen izolata maruz kalan larvalar üzerinde misel gelişimi gözle görülebilir olmuştur. Bazı *B. Bassiana* izolatlarının kurak ortamlarda tipik olarak bulunan abiyotik faktörlere çok iyi düzeyde yanıt verdiği ve bunun hem genotipleriyle hem de izolasyon habitatları veya ekosistemleriyle ilişkili olmadığı rapor edilmektedir (Fernández-Bravo ve ark., 2016). Denemelerde kullanılan *B. bassiana* izolatı da misel gelişimi sağlayarak paralel sonuçlar görmemize sebep olmuştur ve farklı dozlarının steril toprak yüzeyine uygulanarak *T. molitor* larvaları üzerindeki etkilerinin takibi yapılmıştır.

*Topraklarda yürütülen Beauveria bassiana izolatının T. molitor üzerindeki etkinliği*

Denemede kurulumunda kullanılan toprak nemi %0 kabul edilen fırın kuru toprağın (TSE, 1990) bazı parametreleri Çizelge 2’de

gösterilmiştir. EPF’un canlılığını ve kolonizasyon sağlayabilecek oranlarda tuzluluk, pH, organik madde miktarı ve potasyum oranına sahip olduğu düşünülmektedir.

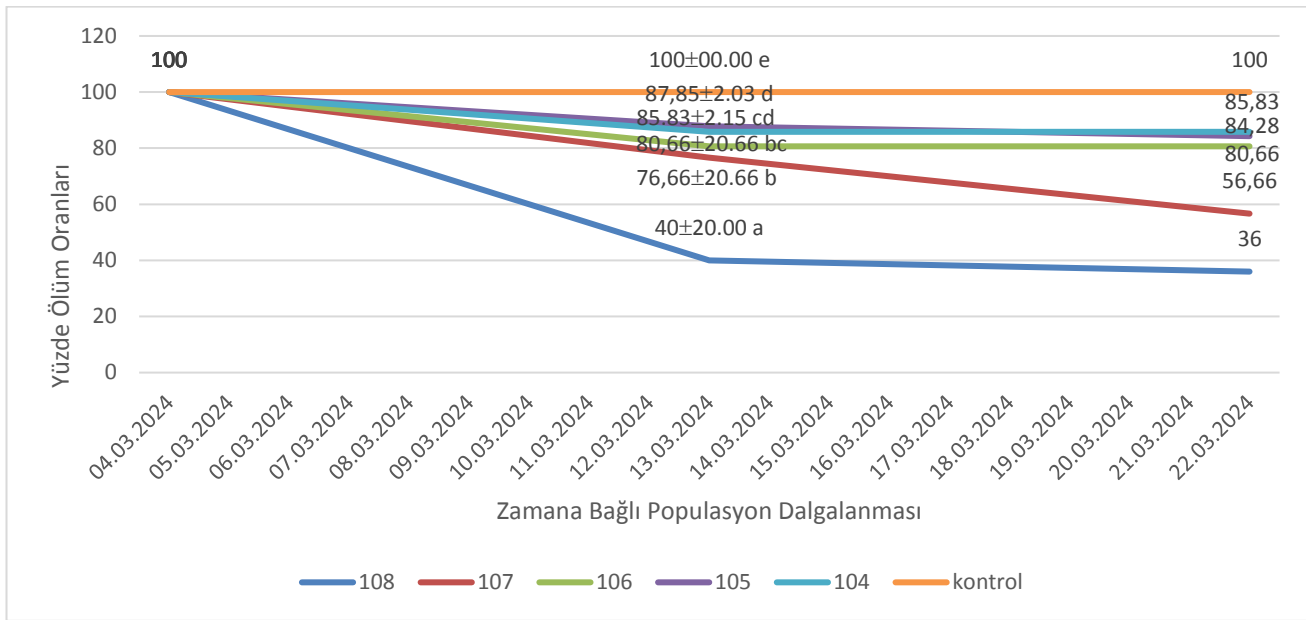
Çizelge 2. Toprak denemelerinin kurulumunda kullanılan steril edilmiş toprağın içerik analizi

Table 2. Content analysis of sterilized soil used in setting up soil experiments.

Saturasyon(%)	Tuzluluk (%)	pH	Organik Madde (%)	Potasyum (ppm)
Saturation (%)	Salinity (%)	pH	Organic Matter (%)	Potassium (ppm)
55	0.010	7.5	4.67	272

Farklı zararlılar üzerinde EPF’larla yürütülen diğer çalışmalarda petri ve toprak koşullarındaki ölüm oranlarının farklılığını gösterilmiştir. Örneğin Cherqui ve ark. (2020) yürüttükleri bir çalışmada, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) larvalarının *B. bassiana*’ya maruz bırakıldığında petri kaplarından %44 ölüm oranı elde ederken, toprak koşullarında denemeyi aynı dozlarla tekrarladığında %33 oranında ölüm elde ettiklerini vurgulamışlardır. Benzer şekilde petri ve toprak ortamlarında *C. capitata* ile yapılan bir çalışma da, Sevinç ve Karaca (2024), petri kaplarında ölüm oranı %100 tespit edilen *Cordyceps* izolatında, steril toprak koşullarında aynı doz %87 oranında olduğunu rapor etmişlerdir. Elbette petri kaplarında hava sirkülasyonunun kısıtlanması sebebiyle nem oranında görülebilecek artış buna sebep olabilmektedir. Aynı zamanda toprak koşullarında konidiosporlara maruz kalma süresi çok daha düşmektedir. Çünkü larvalar toprak yüzeyine yayılan konidiosporlara daha az süre ile maruz kalarak toprak altına doğru hızlı bir geçiş yapmakta olduğu çalışmalarda görülmüştür. Bu çalışmada da toprakta yürütülen çalışmalar petri kaplarına oranla ölüm oranları daha düşük bulunmuştur. Deneme kurulumundan dokuz gün sonra yapılan sayımlarda popülasyonların ölüm

yüzdeleri hesaplandığında;  $10^8$  konidi  $ml^{-1}$  dozu %60, 18 gün sonunda ise %64 ölüm oranına sahip olmuştur.  $10^7$  konidi  $ml^{-1}$  dozu ise aynı günlerde sırasıyla; %23.34 ve %43.34 ölüme sebep olmuştur.  $10^6$  konidi  $ml^{-1}$  dozunda ise günlere göre ölüm oranları sırasıyla; %19.34, %19.34;  $10^5$  konidi  $ml^{-1}$  dozunda ise bu oranlar; %12.15 ve %15.72;  $10^4$  konidi  $ml^{-1}$  dozunda ise; %14.17 ve %14.17 ölüme sebep olmuştur. Kontrol grubu bu süreçte canlılığını sürdürmüştür (Şekil 1.). Denemenin 18. gününden sonra canlı bireylerin pupa dönemine girdiği ve ilerleyen süreçlerde ergin olduğu görülmüştür. Çalışmanın dokuzuncu günündeki ölüm verileri üzerinden yapılan istatistik analizinde gruplar kontrole oranla farklı bulunmakla birlikte en yüksek etki  $10^8$  konidi  $ml^{-1}$  dozunda görülmüştür. Farklı depo zararlıları ve *B. bassiana* ile yapılan çalışmalarda da benzer şekilde zamana bağlı olarak ölümün arttığı ifade edilmektedir (Bayındır Erol ve ark., 2024). Çalışmamızda da zamana bağlı olarak bazı dozlarda ölüm oranları artmasına rağmen mücadele hızlı sonuçları görmek için denemenin dokuzuncu gününde yapılan sayım sonuçları istatistiki olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 1. Farklı yoğunluklarda *Beauveria bassiana*' ya maruz kalan larvalarda zamana bağlı popülasyon dalgalanmaları. \* Denemenin 9. gününde ölüm verilerini gösteren sütunlardaki farklı harfler Tukey testine göre istatistiki olarak önemli derecede farklı olduklarını belirtmektedir ( $P<0.05$ ).

Table 1. Population fluctuations over time in larvae exposed to different densities of *Beauveria bassiana*. \* Different letters in the columns showing mortality data on the 9th day of the experiment indicate statistically significant differences according to the Tukey test ( $P<0.05$ ).

## Sonuçlar

Entomopatojen fungusların eklembacaklı konukçularını enfekte ettiği alanın mikro iklimi, enfeksiyon başarısı için kritik öneme sahiptir (Boulard ve ark. 2002). Tarımsal ekosistemlerdeki ortam nem koşullarının propagül ölüm oranı veya virülansı üzerinde kritik bir etkisinin bulunmadığı dolayısıyla mikro çevresel nemin genellikle entomopatojen fungal enfeksiyon için ideal düzeyde olduğu (Fargues ve ark. 2005) diğer araştırmacılar tarafından rapor edilmektedir. Her ne kadar bağıl nem, entomopatojen fungusların işlevsel olduğu çevresel alandaki nem oranını temsil etmese de (Queada-Moraga ve ark., 2024), düşük bağıl nem ortamında depolanan ürünlere (Rumbos ve Athanassiou 2017; Singh ve Fielke 2017) eklembacaklılarla mücadele amacıyla kullanılmak üzere düşük nem oranlarında da virülensliğini sürdürme kabiliyeti bulunan EPF'ların yerel olarak izole edilmesinin önemli ve gerekli (Quesada-Moraga ve ark., 2024) olduğu düşünülmektedir. Düşük bağıl ve ortam (toprak, petri) nemi koşulları sağlanarak başarı kriterine göre eleme sonucu elde edilen izolatların *T. molitor* üzerinde öldürücü olduğu görülmüş, misel geliştiren *Beauveria bassiana* izolatının ise

fırın kuru toprak koşullarında da önemli seviyede popülasyonu düşürdüğü anlaşılmıştır. İzolasyonu yapılan EPF'ların gıda depolama alanları gibi düşük bağıl nem koşullarında kullanılma potansiyeli taşıdığı ve çalışma sonuçlarının yapılacak diğer çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmadığını beyan ederler.

**Yazar Katkısı:** Yazarlar tarafından katkılar; 'MSS: Deneme planı, böceklerin yetiştirilmesi, denemelerin kurulması ve takibi, verilerin kaydedilmesi ve analizi, makale yazımı, NK: Entomopatojenlerin izolasyonu, morfolojik tanılaması, çoğaltımı, makale kontrol, revizyon ve onaylama, MA: Toprak örnekleri ve analizlerini sağlama, makale kontrol, revizyon ve onaylama' şeklinde beyan edilmektedir.

**Teşekkür:** Yazarlar; materyal ve altyapı olanağı sağlayarak çalışmayı destekleyen Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü, Meyvecilik Araştırma Enstitüsü'ne teşekkür ederler.

## Kaynaklar

- Acheampong, M., Hill, M., Moore, S. & Coombes, C. (2020). UV sensitivity of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates under investigation as potential biological control agents in South African citrus orchards. *Fungal Biology*, 124(5), 304–310. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2019.08.009>
- Ayvaz, A., Albayrak, S., & Karaborklu, S. (2008). Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupae of Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Management Science*, 64: 505–512. DOI: 10.1002/ps.1526
- Baki, D., Kırışık, M., & Erler, F. (2020). Antalya ili topraklarından *Galleria mellonella* kullanılarak izole edilen potansiyel entomopatojen fungus izolatlarının *Myzus persicae*'e etkilerinin belirlenmesi. *Türkiye Biyolojik Mücadele Dergisi*, 11(1), 43-54. DOI: <https://doi.org/10.31019/tbmd.620116>
- Bayındır Erol, A., Erdoğan, O., & Sevinç, M. S. (2024). Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. Isolates on Dried Fruit Moth (*Plodia interpunctella* [Lepidoptera: pyralidae]). *Black Sea Journal of Agriculture*, 7(1), 77-81. <https://doi.org/10.47115/bsagriculture.1393389>
- Boulard, T., Mermier, M., Fargues, J., Smits, N., Rougier, M. & Roy, J. C. (2002). Tomato leaf boundary layer climate: implications for microbiological whitefly control in greenhouses. *Agricultural and Forest Meteorology*, 110(3), 159-176. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(01\)00292-1](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(01)00292-1)
- Chergui S., K. Boudjemaa, A. Benzehra & Karaca I, 2020. Pathogenicity of indigenous *Beauveria bassiana* (Balsamo) against *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30(1): 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41938-020-00331-z>
- Dash, C. K., Bamsile, B. S., Keppanan, R., Qasim, M., Lin, Y., Islam, S. U., Hussain, M. & Wang, L. (2018). Endophytic entomopathogenic fungi enhance the growth of *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) and negatively affect the development and reproduction of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: tetranychidae). *Microbial Pathogenesis*, 125: 385–392. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.09.044>
- Delcour, I., Spanoghe, P. & Uyttendaele, M. (2015). Literature review: Impact of climate change on pesticide use. *Food Research International*, 68, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.09.030>
- Eilenberg, J. (2006). Concepts and visions of biological control. In: Eilenberg J, Hokkanen HMT (eds) *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Springer, Dordrecht, pp 1–11
- Eken, C., 2011. Isolation, Identification and Preservation of Entomopathogenic Fungi. In: Borgio, J.F., Sahayaraj, K. and Susurluk, I.A. (Eds.), *Microbial Insecticides, Principles and Applications*. Nova Science Publishers Inc., New York, USA, pp. 1-28
- FAO/IAEA, 2019. Use of entomopathogenic fungi for fruit fly control in area-wide SIT programmes (Ed: A. Villaseñor, S. Flores, S. E. Campos, J. Toledo, P. Montoya, P. Liedo & W. Enkerlin, Food and Agriculture Organization of the United Nations/International Atomic Energy Agency: Vienna. 43 pp.
- Fargues, J., Smits, N., Rougier, M., Boulard, T., Ridray, G., Lagier, J., Jeannequin, B., Fatnassi, H. & Mermier, M. (2005). Effect of microclimate heterogeneity and ventilation system on entomopathogenic hyphomycete infection of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) in Mediterranean greenhouse tomato. *Biological Control*, 32:461–472. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.12.008>
- Fernández-Bravo, M., Flores-León, A., Calero-López, S., Gutiérrez-Sánchez, F., Valverde-García, P. & Quesada-Moraga, E. (2017) UV-B radiation-related effects on conidial inactivation and virulence against *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera; Tephritidae) of phylloplane and soil *Metarhizium* sp. Strains. *Journal of Invertebrate Pathology*, 148:142–151. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2017.06.012>
- Foth, H.D., (1984). *Fundamentals of Soil Science*. 7th edition. John Wiley and Sons Inc., New York, pp: 434
- García-Fernández, P., Santiago-Álvarez, C. & Quesada-Moraga, E. (2008). Pathogenicity and thermal biology of mitosporic fungi as potential microbial control agents of *Varroa destructor* (Acari: Mesostigmata), an ectoparasitic mite of honey bee, *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Apidologie* 39:662–673. DOI: <https://doi.org/10.1051/apido:2008049>
- Hall, G.V., D Souza, R.M., & Kirk, M.D. (2002). Foodborne disease in the new millennium: Out of the frying pan and into the fire? *Medical Journal of Australia*, 177(11/12), 614–619. DOI: 10.5694/j.1326-5377.2002.tb04984.x
- Harvell, C. D., Mitchell, C. E., Ward, J. R., Altizer, S., Dobson, A. P., Ostfeld, R. S. & Samuel, M. D. (2002). Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science*, 296(5576), 2158–2162. DOI: 10.1126/science.1063699
- Humber, R. A. (1997). Fungi: identification. In: Lacey LA (ed) *Manual of techniques in insect pathology*. Academic Press, San Diego, Chapter V-3, 153–185.
- Humber, R. A. 1998. Entomopathogenic fungal identification. APS/ESA Joint Annual Meeting 8-12 November, Las Vegas, NV.
- IBM Corp. (2010). *SPSS Statistics for Windows*. IBM Corp, Armonk, NY.
- Jackson, M. A., Dunlap, C. A. & Jaronski, S. T. (2010) Ecological considerations in producing and formulating fungal entomopathogens for use in insect biocontrol. *Biocontrol*, 55:129–145. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9240-y>
- Jarmuł-Pietraszczyk, J., Kamionek, M. & Kania, I., (2011). Occurrence of Entomopathogenic Fungi in Selected Parks and Urban Forests Of The Warsaw District Ursynow. *Ecological Chemistry And Engineering A*, 18(11), 1571–1574.
- Jaronski, S. T (2010) Ecological factors in the inundative use

- of fungal entomopathogens. *Biocontrol*, 55:159–185. <https://doi.org/10.1007/s10526-009-9248-3>
- Keskin, Y., Karabörklü, S., & Altın, N. (2019). Bazı Yerel Entomopatojen Fungusların Toprak Koşullarındaki Etkinliklerinin *Tenebrio molitor* L. (Col.: Tenebrionidae) Larvaları Kullanılarak Araştırılması. *Türkiye Teknoloji ve Uygulamalı Bilimler Dergisi*, 2(1), 26-31.
- Keyser, C. A., Henrik, H., Steinwender, B. M. & Meyling, N. V. (2015). Diversity within the entomopathogenic fungal species *Metarhizium flavoviride* associated with agricultural crops in Denmark. *BMC Microbiology*, 15, 249.
- Kılıç, E. Erzincan'da Entomopatojen Fungusların Oluşumuna ve Dağılımına Etki Eden Toprak Faktörleri. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 23, 875-881. DOI: <https://doi.org/10.31590/ejosat.895773>
- Lepetz, V., Massot, M., Schmeller, D.S., & Clobert, J. (2009). Biodiversity monitoring: Some proposals to adequately study species' responses to climate change. *Biodiversity and Conservation*, 18(12), 3185–3203.
- Lu H. L. & St Leger, R. J. (2016). Insect immunity to entomopathogenic fungi. *Advances in Genetics*, 94: 251–285. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2015.11.002>
- Medo, J., Cagán, L., 2011. Factors affecting the occurrence of entomopathogenic fungi in soils of Slovakia as revealed using two methods. *Biological Control*, 59, 200–208. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.07.020>
- Meyling, N.V., Arthur, S., Pedersen, K.E., Dhakal, S., Cedergreen, N., Fredensborg, B.L. (2018). Implications of sequence and timing of exposure for synergy between the pyrethroid insecticide alpha-cypermethrin and the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Pest Management Science*, 74: 2488–2495. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4926>
- Ortiz-Urquiza A & Keyhani, N. O. (2013). Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4(3); 357–374. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects4030357>
- Qayyum, M. A., Saeed, S., Wakil, W., Nawaz, A., Iqbal, N., Yasin, M., Chaurdhry, M. A., Bashir, M. A., Ahmed, N., Riaz, H., Bilal, H., Hashem, M. & Alamri, S. (2021). Diversity and correlation of entomopathogenic and associated fungi with soil factors. *Journal of King Saud University-Science*, 33(6), 101520. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101520>
- Quesada-Moraga, E., González-Mas, N., Yousef-Yousef, M., Garrido-Jurado, I. & Fernández-Bravo, M. (2024). Key role of environmental competence in successful use of entomopathogenic fungi in microbial pest control. *Journal of Pest Science*, 97, 1–15 (2024). DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-023-01622-8>
- Quesada-Moraga, E., Maranhao, E. A. A., Valverde-García, P. & Santiago-Álvarez, C. (2006). Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements and toxicogenic activity. *Biological Control*, 36:274–287. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.09.022>
- Quesada-Moraga, E., Navas-Cortés, J. A., Maranhao, E. A. A., Ortiz-Urquiza, A. & Santiago-Álvarez, C. (2007). Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research*, 111:947–966. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.06.006>
- Rath, A.C., (2000). The use of entomopathogenic fungi for control of termites. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 563-581. DOI: <https://doi.org/10.1080/095831500750016370>
- Rodríguez-Gómez, D., Loera, O., Saucedo-Castañeda, G. & Viniegra-González, G. (2009) Substrate influence on physiology and virulence of *Beauveria bassiana* acting on larvae and adults of *Tenebrio molitor*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25:513–518.
- Rosenzweig, C., Iglesias, A., Yang, X., Epstein, P.R., & Chivian, E. (2001). Climate change and extreme weather events; implications for food production, plant diseases, and pests. *Global Change and Human Health*, 2(2), 90–104.
- Rumbos, C. I. & Athanassiou, C. G. (2017). Use of entomopathogenic fungi for the control of stored-product insects: can fungi protect durable commodities? *Journal of Pest Science*, 90:839–854. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0849-9>
- Samson, R. A. (1974). *Paecilomyces* and some allied hypomycetes. *Studies in Mycology*, 6: 1- 119.
- Samson, R.A., H.C. Evans, & J.P. Latge 1988. *Atlas of entomopathogenic fungi*. SpringerVerlag, New York.
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N. & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, 430:430–439. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Scholte E. J., B. G. J. Knols, R. A. Samson & W. Takken, (2004). Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. *Journal of Insect Science*, 4(1): 1–24.
- Sevinç, M. S., & İ. Karaca, (2024). Environmental persistence of the conidia of native entomopathogenic fungi and their efficiency on *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae). *Turkish Journal of Entomology*, 48(3), 327-342. <https://doi.org/10.16970/entoted.1498947>
- Shah P. A. & J. K. Pell, (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 61(5): 413–423.
- Singh, C. B., Fielke, J. M. (2017). Recent developments in stored grain sensors, monitoring and management technology. *IEEE Instrumentation & Measurement Magazine*, 20:32–55. DOI: <https://doi.org/10.1109/MIM.2017.7951690>
- TSE. (1990). *Topraklar- Suyla Doygunluk Tayini*. TS 8333/Nisan-1990, Standardı, Türk Stantları Enstitüsü, Ankara.
- Uzman, D., Pliesterer, J., Leyerb, I., Entling, M. H. & Reineke, A. (2019). Drivers of entomopathogenic fungi presence in organic and conventional vineyard soils. *Applied Soil Ecology*, 133:89–97. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.09.004>

- Vega, F. E., Goettel, M. S., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M. A., Keller, S., Koike, M., Maniania, N. K., Monz'ón, A. B., Ownley, H., Pell, J. K., Rangel, D. E. N. & Roy, H. E., (2009). Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology*, 2(4):149–159. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2009.05.001>
- Vega, F. E., Meyling, N. V., Luangsa-ard, J. J. & Blackwell, M. (2012). Fungal entomopathogens. In: Vega FE, Kaya HK (eds) *Insect Pathology*. 2nd edition. Academic Press, Cambridge, pp. 171–220. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384984-7.00006-3>
- Wang, Y. S., Huang, Y. J., Chen, W. C., & Yen, J. H. (2009). Effect of carbendazim and pencycuron on soil bacterial community. *Journal of Hazardous Materials*, 172(1), 84–91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.06.142>
- Zettler, J. L., Arthur, F. H. (2000). Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Protection*, 19: 577–582. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00075-2](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00075-2)





# Effect of Different Growing Periods on Yield and Quality Characteristics in Artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) Production

## Enginar (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) Üretiminde Farklı Yetiştirme Dönemlerinin Verim ve Kalite Özelliklerine Etkisi

Celil KORKMAZ<sup>1</sup>  Ertan Sait KURTAR<sup>2\*</sup> ,

<sup>1</sup>Atasagun Marketing Industry and Trade Ltd. Sti., KONYA, <sup>2\*</sup>Selçuk University, Horticulture Department of Agriculture Faculty, KONYA

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-3213-0622>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-7203-7430>

### To cite this article:

Korkmaz, C. & Kurtar, S. E., (2024). Effect of Different Growing Periods on Yield and Quality Characteristics in Artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) Production. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 604-615

DOI: 10.29050/harranziraat. 1485735

### \*Address for Correspondence:

Ertan Sait KURTAR

e-mail:

ertansaitkurtar@selcuk.edu.tr

### Received Date:

19.05.2024

### Accepted Date:

20.10.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

The present study was carried out to determine the performance of artichoke as an alternative vegetable crop in Konya's ecological conditions. Thus, Jade F1 (JD) and Bayrampaşa (BP) cultivars were planted for 2 planting periods (1<sup>st</sup> - May 20 and 2<sup>nd</sup> - June 10) and some growth characteristics, yield characteristics, and head characteristics were investigated. BP planted on 2<sup>nd</sup> period and the JD planted on 1<sup>st</sup> period produced remarkable stem development. BP had higher plant height values than JD and reached the highest plant height values with the increase in air temperature. BP and JD well adapted to the field conditions as the temperature increased and they had a relatively higher leaf number. The maximum stalk number with head per plant was determined as 10.65 in 2<sup>nd</sup> planting period and the JD had the highest total head number per decare (da) in 1<sup>st</sup> planting period with 7850 heads. Likewise, the average head number and total head weight with stalk were the highest with 7.85 per plant and 1613 kg da<sup>-1</sup> in the 1<sup>st</sup> period in JD, respectively. JD had the highest head diameter (9.15 cm) in 2<sup>nd</sup> period, followed by JD (8.10 cm) and BP (7.40 cm) in 1<sup>st</sup> period. JD plants had the highest heads (9.36 cm) and the highest calycle diameters (9.93 cm) in the 2<sup>nd</sup> period. Eventually, comparative economic analysis was realized with tomato production, and the 1<sup>st</sup> planting period with JD was determined to be feasible in Konya conditions.

**Key Words:** Artichoke, Cultivation period, Konya ecological conditions, Yield, Quality

### ÖZ

Sunulan çalışma, enginarın alternatif bir sebze olarak Konya koşullarındaki performansını belirlemek amacıyla yapılmıştır. Jade F1 (JD) ve Bayrampaşa (BP) çeşitleri 2 farklı dönemde (1. - 20 Mayıs ve 2. - 10 Haziran) dikilmiş ve bitki büyüme özellikleri, verim özellikleri ve baş kalite özellikleri belirlenmiştir. 2. dönemde dikilen BP ve 1. dönemde dikilen JD, dikkate değer ölçüde kök boğazı gelişimi göstermiştir. BP JD'ye göre daha yüksek bitki boyu değerlerine sahip olmuş ve hava sıcaklığının artmasıyla birlikte en yüksek bitki boyu değerlerine ulaşmıştır. BP ve JD sıcaklık arttıkça arazi koşullarına iyi uyum sağlamış ve nispeten daha yüksek yaprak sayısı değerlerine sahip olmuşlardır. Bitki başına maksimum dal sayısı 2. dönemde 10.65 olarak belirlenmiş, JD 7850 adet ile 1. dönemde dekara (da) en yüksek toplam baş sayısına sahip olmuştur. Aynı şekilde, JD'de ortalama baş sayısı ve saplı toplam baş ağırlığı sırasıyla bitki başına 7.85 ve 1613 kg da<sup>-1</sup> ile 1. dikim döneminde en yüksek olmuştur.

JD bitkileri 2. dönemde en yüksek baş çapına (9.15 cm) sahip olmuş, onu 1. dönemde JD (8.10 cm) ve BP (7.40 cm) takip etmiştir. En uzun başlara (9.36 cm) ve en yüksek kaliks çapına (9.63 cm) 2. dönemde yetiştirilen JD bitkileri sahip olmuştur. Domates yetiştiriciliği ile kıyaslamalı yapılan ekonomik analiz sonucunda JD çeşidi ve 1. dikim döneminin Konya koşullarında ekonomik olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Enginar, Yetiştirme dönemi, Konya ekolojik koşulları, Verim, Kalite

## Introduction

The cultivated artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) is a member of the Asteraceae family, which includes many species such as chicory and lettuce (Ryder et al., 1983). The Asteraceae family has about 1000 genera and nearly 20 thousand species around the world. In Turkey, there are 133 genera and 1156 species (Baytop, 1999). Although the artichoke grows naturally in Mediterranean countries including Southern Europe, North Africa, and the Canary Islands, the plant is also cultivated (Sonnante et al., 2002). Wild species are mostly grown in countries in the Mediterranean Region. The origin of the artichoke, which is a vegetable of the compound flower family, is stated as the Mediterranean basin and the island of Cyprus (Bayraktar, 1981; Abak, 1987).

Artichokes are cultivated and consumed in many countries around the world. Chief among these countries are Egypt, Morocco, and Tunisia in Africa; In Asia, China, Israel, Lebanon, United Arab Emirates, Turkey; Argentina, Brazil, and Chile in South America; California comes from North America (Portis et al., 2005). Today, both wild forms and cultivated forms of the artichoke are abundantly encountered in Western and Eastern Mediterranean countries, North Africa, and Southern European countries (Thompson and Kelly, 1957). Italy and Spain come first in the cultivation of artichoke, which has a wide production network in Mediterranean countries (Llorach et al., 2002; Curradi et al., 2007). Although the Mediterranean countries play a major role in the consumption of artichoke as food, it is a plant species that is used as a supplement in treatments and registered in various pharmacopeias and monographs (Curadi et al., 2007).

The world artichoke production area is

approximately 113.058 ha, and the production reached 1.58 million tons. Egypt is the first producer with 459.962 tons, followed by Italy (378.110 tons) and Spain (200.000 tons). Türkiye is ranked 8<sup>th</sup> in world artichoke production with 40.815 tons (FAO, 2022). Artichoke production is generally realized by vegetative methods and two artichoke varieties named Sakız and BP come to the fore in Turkey. The varieties are produced from seeds, which have been used as canned and frozen products since the 2000s. Moreover, it is also reported to be consumed in the form of jam with high antioxidant content (Durmuş et al., 2020). Domestic type and abroad-sourced small-headed canned artichoke varieties are also encountered (Eser et al., 2006; Kenanoğlu Bektaş and Saner, 2011). Artichoke production has largely shifted from the province of Istanbul to the Eastern Marmara Region in recent years. In addition, between these two species, some species grow in different forms called Yerli, Darıca, and Tuzla (Ekinci, 1956; Özzambak et al., 2006; Bölükbaşı, 2016). While the majority of production is realized in the provinces of Izmir, Bursa, and Aydın, especially in early growing, production has been carried out in Antalya and Adana provinces in Turkey (Anonymous, 2023).

Although Konya has come to the fore with cereal group, sunflower, and carrot, vegetable production has started to intensify, especially in Altınekin and Çumra, with the transition to irrigated agriculture. In this process, the production areas of watermelon and tomatoes, especially melons, have increased and the vegetable producers have been in search of alternative vegetable types that can have a high income. Thus, it aims to investigate the possibilities of growing artichokes in regional conditions, to determine the yield and quality characteristics, and to obtain literature information that will be a source for artichoke

cultivation in Konya and other regions that have similar climatic conditions.

In the present study, JD and BP cultivars were planted in 2 different periods (20 May and 10 June) and some plant growth, yield, and quality parameters of artichoke were investigated in Konya as an alternative vegetable crop.

## Materials and Methods

The research was carried out between April and October 2019 in the producer's area in the Karatay-Konya.

## Material

Jade (JD) and Bayrampaşa (BP) artichoke varieties were used as plant material (Figure 1). BP is consumed for both fresh and canning. It has a very large and flat head and also carries a large calycle. Being a late variety reduces the fresh consumption rate. It is widely grown in the Marmara, Black Sea, and Central Anatolia regions (Keskin and Namal, 2018). JD is produced from seed, has medium-sized heads, and is suitable for fresh consumption. Although the calycle is narrow, it is more preferred to be consumed as stuffed.

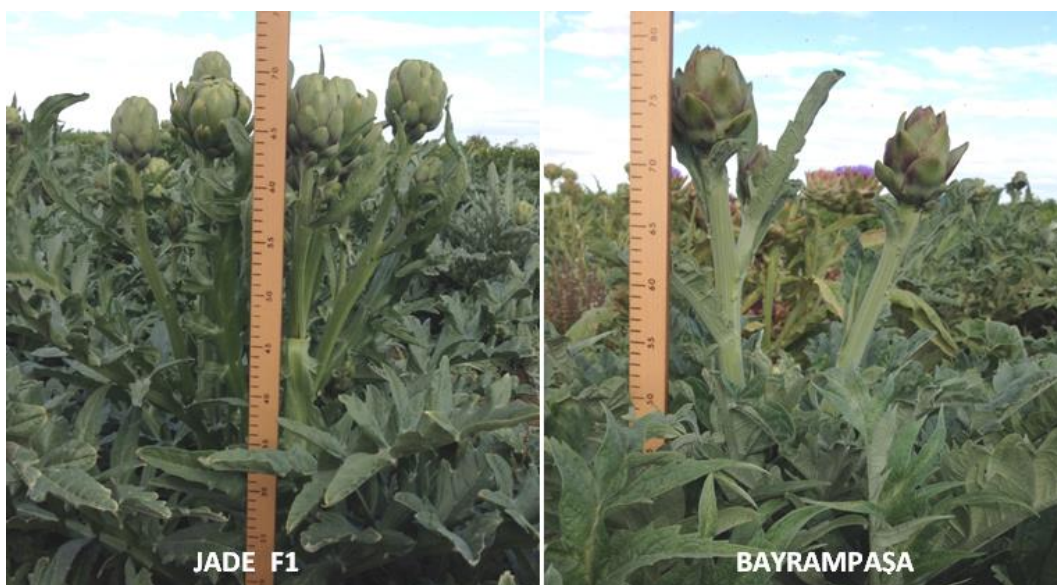


Figure 1. The cultivars (Original)

## Methods

### Experimental area

To determine the physical properties of the soil in the experimental area, degraded and undisturbed soil samples were collected from 0 - 30, 30 - 60, and 60 - 90 cm soil layers in soil profiles up to 90 cm depth at 2 different locations. The soil of the study area is slightly

alkaline, slightly salty, very high in phosphorus and potassium, medium in organic matter, very high in lime, and has a clay-loamy texture. Thus, the fertilization program was established before and after planting, and additional fertilization was applied considering the development, needs, and vegetative part of the plant (Table 1).

Table 1. The fertilization program was applied via soil analysis.

<i>Applying Time</i>	<i>Fertilizer</i>	<i>kg da<sup>-1</sup></i>
Before planting	Decompose manure	3000
	Triple Super Phosphate 44 % (w/v)	5
	Potassium Sulphate 50 % (w/v)	10
During planting	Ammonium Nitrate 33 % (w/v)	20
	Ammonium Sulphate 21 % (w/v)	30
When the first heads appear	Potassium Sulphate 50 % (w/v)	5
	Ammonium Nitrate 33 % (w/v)	20
20 days after the first heads appear	Ammonium Nitrate 33 % (w/v)	20

Since it is stated that potassium has a positive effect on yield and quality, care has been realized in fertilization (Öztürk et al., 2020). The base fertilizer was mixed with the soil during soil preparation, and the top fertilizers were applied with the drip irrigation system.

### *Cultivation*

The seedlings of the BP were obtained from a commercial company in Antalya. Seeds of

JD were sown in plastic containers containing peat moss in glasshouse conditions. The seedlings with 3-4 leaves were planted on 20 May 2019 (1<sup>st</sup> period) and 10 June 2019 (2<sup>nd</sup> period) at 1 x 1 m spacing and distances in the field conditions, and then sap water was applied with the drip irrigation system in 2019 spring. 20 seedlings were planted for each period and each cultivar (Figure 2).



Figure 2. The seedlings of the cultivars and plantation (Original)

A sprinkler irrigation system has been established in Konya to equalize the moisture balance and to provide the required humidity level, especially in the summer, due to the low relative humidity (approximately 40-50 %). For fungal diseases, it

was preferred to irrigate at the necessary periods and during cool hours to prevent encounters with hot-cold weather conditions and to minimize transpiration (Figure 3).



Figure 3. The sprinkler irrigation (Original)

vegetative part and to encourage earliness, ensure regular head formation, and increase the quality of the heads formed (Figure 4).

Figure 4. GA<sub>3</sub> pulverization (Original).

Hoeing, weeding, disease, and pest management were carried out regularly. In the production season, mole, aphid, leaf fly, and tomato moth pests were encountered and struggled. The mole ate the tubers of the plant, causing complete damage to the plant. During the production season, a drug containing 33 % w/w phosphine was poured into the molehills. Although the desired results could not be obtained in the fight against mole, the level of damage was tried to be minimized. Pests such as aphids and leaf flies were combated with 25 g l<sup>-1</sup> Deltamethrin, 20 % Acetamiprid active ingredient agricultural pesticides every week for approximately 45 days after planting the plant in the field. The tomato moth pest was encountered once, approximately 30 days after planting the seedlings. It has struggled with an agricultural pesticide with a 35 % Chlorantraniliprole active ingredient.

During the production season, unfavorable weather conditions, and *Alternaria* were encountered on the artichoke leaves and caused a partial head loss in the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> harvests of the 1<sup>st</sup> period of JD. It struggled with 80 % Fosetyl-Al active ingredient and considerable results were obtained. With the struggle, the head loss ended in the next harvests. 40 ppm of GA<sub>3</sub> was applied on 26 July 2019 in the 1<sup>st</sup> cultivation and on 16 August 2019 in the 2<sup>nd</sup> cultivation to ensure the elongation of the

### Observations

Plant growth characteristics [stem diameter (mm), leaf number (per plant), plant height (cm)] were determined on the 10<sup>th</sup>, 20<sup>th</sup>, and 30<sup>th</sup> days after planting. Yield characteristics [stalk number with head (piece/per plant), total head number (da), average head number (per plant), total head weight with stalk (kg da<sup>-1</sup>), total head weight without stalk (kg da<sup>-1</sup>), average head weight (g)] and head quality characteristics [head stem diameter (cm), head diameter (cm), head height (cm) and calycle diameter (cm)] was evaluated.

### Experimental design and data evaluation

The experiment was carried out according to the randomized blocks design with 3 replications and 20 plants in each replication. The obtained data were subjected to analysis of variance in the JUMP package program, and the differences between the means were determined by Duncan's multiple comparison test.

## Results and Discussions

### Plant characteristics

*Stem diameter (mm), number of leaves per plant, plant height (cm)*

The views of the JD and BP plants realized 3 times with an interval of 10 days are presented in Figures 5, 6, 7, and 8.

Figure 5. Development in 1<sup>st</sup> of JD at 10-day intervals from planting (Original).Figure 6. Development in 2<sup>nd</sup> of JD at 10-day intervals from planting (Original).Figure 7. Development in 1<sup>st</sup> of BP at 10-day intervals from planting (Original).Figure 8. Development in 2<sup>nd</sup> of BP at 10-day intervals from planting (Original).

There is no statistical difference on the 30<sup>th</sup> day for SD values (Table 2). SD was 6.68 mm in the 1<sup>st</sup> and 6.06 mm in the 2<sup>nd</sup> in JD. On average, BP produced better results (7.62 mm) than JD (6.37 mm) on the 10<sup>th</sup> day. On the 30<sup>th</sup> day, SD values ranged from 28.62 mm to 31.39 mm.

Respectable SD results were obtained from BP in 2<sup>nd</sup> and from the JD in 1<sup>st</sup>. Contrary to the findings of Namal (2019), BP and JD adapt to the field conditions as the temperature increases and show a good development in the SD.

Table 1. Stem diameter (SD), leaf number (LN), and plant length (PL) for varieties, growing periods (P), and days

	P	SD (mm)			LN (number plant <sup>-1</sup> )			PL (cm)		
		10 <sup>th</sup>	20 <sup>th</sup>	30 <sup>th</sup>	10 <sup>th</sup>	20 <sup>th</sup>	30 <sup>th</sup>	10 <sup>th</sup>	20 <sup>th</sup>	30 <sup>th</sup>
JD	1 <sup>st</sup>	6.06	13.35 cd	29.59 a	3.53	5.50 cd	9.25	15.00	21.58 de	38.18 c
	2 <sup>nd</sup>	6.68	13.31 cd	28.76 ab	3.44	5.06 cd	8.52	14.34	23.96 d	41.56 bc
BP	1 <sup>st</sup>	7.73	11.87 d	28.62 ab	3.62	6.25 c	10.17	14.00	20.57 de	44.27 b
	2 <sup>nd</sup>	7.50	15.23 c	31.39 a	4.11	7.05 c	10.86	13.76	25.68 d	50.12 a
		LSD: 4.10			LSD: 2.88			LSD: 6.16		

In the LN, no statistical difference was determined and the values ranged from 3.44 (2<sup>nd</sup> in JD) to 4.11 (2<sup>nd</sup> in BP) on the 10<sup>th</sup> day. BP had the highest LN values with 7.05 and 6.25 for both periods on the 20<sup>th</sup> day. On the 30<sup>th</sup> day, there

was no statistical difference for the LN value, and BP had the highest values in both periods and increased LN it had in parallel with the temperature increase. On the other hand, JD had fewer leaves than BP in both periods and formed

relatively fewer leaves in the 2<sup>nd</sup> when temperatures were high. It is possible to argue that BP was less affected by high temperatures and developed better than JD in plant growth.

Measurements realized between February and June in *Cynara cardunculus* L., LN values were 9.33 and 9.67, respectively (Wahba et al., 2017). In addition, as the amount of nitrogen fertilizer increased, an increase was observed in the LN, and it was stated that LN values ranged from 16 to 30 per plant (Allahdadi and Farzane, 2018). In addition, as the temperature increased, the LN in the seedlings of the BP decreased and remained the same at 25 °C and 35 °C (Namal, 2019). In this context, considering the LN, 35 °C was not an appropriate temperature for growing seedlings in artichoke.

BP and JD well adapt to the field conditions as the temperature increases and they show a relatively better development in the LN. Our findings were following Wahba et al. (2017) in February, and when we compared them with the measurements made in June, negative results were obtained. On the other hand, our results were lower than the findings of Allahdadi and Farzane (2018). It is possible to explain this contrast by the fact that the climatic conditions and growing periods of the places where the studies are carried out are different. In addition, it is possible to explain this difference with some cultural practices applied during the breeding period (such as GA<sub>3</sub> application, moistening, and appropriate fertilization program) and the difference in the genotypes. In the PL, no statistical difference was found and the values ranged from 15.00 cm (1<sup>st</sup> period) to 13.76 cm (2<sup>nd</sup> period) on the 10<sup>th</sup> day. BP and JD had the highest PL values with 25.68 and 23.96 in 2<sup>nd</sup> on the 20<sup>th</sup> day. On the 30<sup>th</sup> day, the highest PL value (50.12) was obtained from BP on the 2<sup>nd</sup>.

BP planted on 10 June 2019 in 2<sup>nd</sup> and the JD planted on 20 May 2019 in 1<sup>st</sup> showed remarkable stem development. BP reached the highest plant height values and dominated its plant height with the increase in temperature. Although JD had

lower plant height values compared to BP, it increased plant height with the increase in temperature. It is revealed that artichokes like heat in terms of plant development. Following our results, plant height was examined between February and June in *Cynara cardunculus* L., a gradual increase was observed in both seasons. In February it was 88.33 and 93.33 cm, and in June it was 108.33 and 113.33 cm in two periods, respectively (Wahba et al., 2017).

#### *Yield Characteristics*

The number of stalks with head (SH; number plant<sup>-1</sup>), total head number (THN; per da), average head number (AHN; per plant), total head weight with stalk (THWS), total head weight without stalk (THWWS) and mean head weight (MHW; g) were examined as yield characteristics, and were recorded for each harvest (Table 3). The first harvest of the 1<sup>st</sup> period JD was between August 22, 2019, and the last harvest was between October 5, 2019, and JD had a regular harvest period. The first harvest of the 2<sup>nd</sup> period in JD was on September 10, 2019, and the last harvest was on October 27, 2019. A total of 5 harvests were realized in both periods of JD. On the other hand, BP was harvested only once on October 5, 2019, in the 1<sup>st</sup> period.

In the 2<sup>nd</sup> period, BP maintained its plant growth parameters well for 60-70 days from planting. However, BP, which is a late variety and has a longer vegetative growth until head formation, although it shows an appearance close to JD in terms of external appearance, the last times of vegetative development and the first times of head formation are relatively cool. Since it coincided with the autumn (September - October) when the number of open days decreased (Figure 9), the head could not be formed; therefore, yield could not be obtained in BP in the 2<sup>nd</sup> period. In conclusion, BP needs relatively warmer periods and a higher number of sunny days for head formation compared to JD.

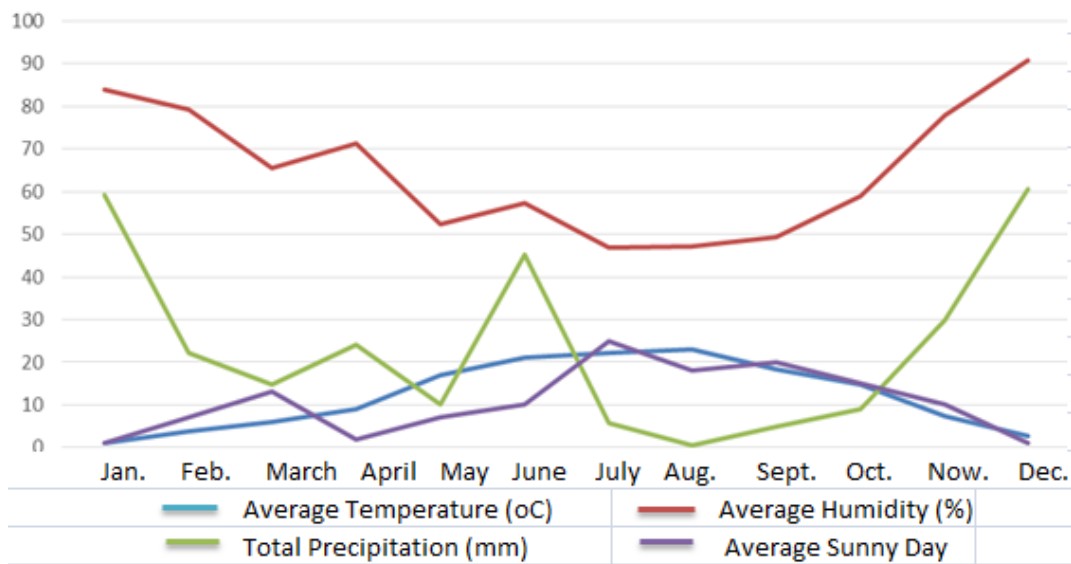


Figure 9. Some climatic data from the experimental area

Table 3. Number of stalks with head (SH), total head number (THN), average head number (AHN), total head weight with a stalk (THWS), total head weight without a stalk (THWWS) and mean head weight (MHW) for varieties and growing periods (P).

	P	SH	THN	AHN	THWS	THWWS	MHW
JD	1 <sup>st</sup>	5.50 b	7850 a	7.85 a	1613 a	1463 a	205 b
	2 <sup>nd</sup>	10.65 a	6011 ab	6.01 ab	1449 a	1328 a	249 a
BP	1 <sup>st</sup>	4.36 b	3383 b	3.38 b	574 b	507 b	165 c
	2 <sup>nd</sup>	0 c	0 c	0 c	0 c	0 c	0 d
		LSD: 1.61	LSD: 1628.43	LSD: 1.63	LSD: 332.09	LSD: 300.75	LSD: 17.69

In the number of SH, JD had the highest value (10.65 units plant<sup>-1</sup>) in the second period, and the harvest could not be realized in BP in the 2<sup>nd</sup> period. JD showed better results than BP and there was no significant difference between the periods. Vural et al. (2000) emphasized that the SH was between 2 and 5, and this situation showed parallelism with the results obtained from our findings. It has been stated that this situation is much different for wild artichoke varieties. With the cultivation of the artichoke, the number of branches decreased and the number of branches provides great benefits for the producers in economical artichoke cultivation.

The highest SH was determined in *C. syriaca*28 in the wild form. It was followed by *C. syriaca*21 and *C. syriaca*14 and *C. syriaca*7, respectively. It was determined that Sakız and Bayrampaşa cultivars were placed before *C. syriaca*1, which was in the last place with an equal number of branches (5) (Aktar, 2019). When we compare the results of the number of SH (number plant<sup>-1</sup>) determined by Vural et al (2000) and Aktar

(2019), the 1<sup>st</sup> period is similar in JD and BP. On the other hand, the 2<sup>nd</sup> period yielded approximately twice as high results in JD.

In the THN, JD ranked first with 7850 heads da<sup>-1</sup>, BP was the third rank in the 1<sup>st</sup> period with 3383 heads da<sup>-1</sup> and there was no harvest in BP in the 2<sup>nd</sup> period. JD showed better results than the local variety BP. The artichokes planted in the 1<sup>st</sup> period showed better results compared to the 2<sup>nd</sup> period. In a study evaluating the yield and quality of varieties treated with GA<sub>3</sub> to achieve early production, harvesting started after 85 days in early varieties and 118 days in late varieties, and the total number of heads varied between 21.800 and 17.500 units per da<sup>-1</sup> (Calabrese and Bianco, 1998).

The total number of heads reached 20.700 units per da (Calabrese et al., 2004) and it was 7549, 8221, and 9745 in three different cultivars, respectively (Santini et al., 2008). An average of 1300 kg head is produced per da in Türkiye. This is 2200 kg in Egypt, which corresponds to an average of 10.000-15.000 heads per da



(Özzambak et al., 2006; Sarı, 2012; Bölükbaşı, 2016). The highest number of heads was 21.666 per da and the lowest number of heads was 3.600 per da (Duman and Nas, 2020). BP and Starline F1 had 4000 and 6000 heads da<sup>-1</sup> THN under the optimum irrigation conditions, respectively (Yılmaz, 2015). Our findings followed the results of Santini et al. (2008), Yılmaz (2015), and Duman and Nas (2020), but it was lower than the findings of Calabrese and Bianco (1998) and Calabrese et al. (2004).

While JD had the highest average number of heads per plant (7.85) in the 1<sup>st</sup> period, BP gave the lowest values (3.38) in the 1<sup>st</sup> period and the harvest could not be realized in BP in the 2<sup>nd</sup> period. JD showed better results than BP, and planting in the 1<sup>st</sup> period had better results compared to the 2<sup>nd</sup> period. Calabrese et al. (2004) investigated some morphological characteristics by applying GA<sub>3</sub> between vegetatively propagated cultivars and seed-propagated hybrid artichoke cultivars. To achieve early production, GA<sub>3</sub> treatments were performed three times at three-week intervals, starting from the 10<sup>th</sup> leaf stage. Harvests were made from October to May and 14 - 19 head plants<sup>-1</sup> were harvested. The average number of heads per plant was 4.0 and 6.0 in BP and Starline F1 under fully irrigated conditions (Yılmaz, 2015).

The AHN results obtained in our study were lower than the results of Calabrese et al. (2004) who obtained 14-19 head per plant. Partially similar results were obtained with Yılmaz (2015). In terms of THWS, JD ranked first with 1613 and 1449 kg da<sup>-1</sup> in 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup>, respectively, and BP was ranked second with 574 kg da<sup>-1</sup>, statistically. The highest head yield was obtained as 1.104 kg da<sup>-1</sup> and the lowest head yield was 160 kg da<sup>-1</sup> in Emerald F1 in İzmir conditions (Duman and Nas, 2020). In our study, the average stem weight (kg da<sup>-1</sup>) of JD was higher than the findings of Duman and Nas (2020). JD had the highest values in THWWS data with 1463 and 1328 kg da<sup>-1</sup> in the 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> periods, respectively, while BP could reach 507 kg da<sup>-1</sup>. 1<sup>st</sup>-period plants of JD showed better results in the MHW outputs (249 g).

The heads vary in size and shape as oval, long-oval, shoulder-oval, cylindrical, round, and flattened as different groupings (Abak, 1987). The heads can vary between 200 and 700 g on average. Calabrese and Bianco (1998) evaluated the yield and quality of cultivars treated with GA<sub>3</sub> to achieve early production by applying 5 ppm GA<sub>3</sub> to leaves three times, starting 60 days after planting in Southern Italy. Harvest started after 85 days in early cultivars and 118 days in late cultivars, and it was reported that the average head weight reached 150 g in all cultivars. Some morphological features were examined by applying GA<sub>3</sub> between vegetatively propagated varieties and seed-propagated hybrid artichoke varieties. Harvests were made during the period from October to May, and the heaviest heads ranged between 165 and 124 g, respectively (Calabrese et al., 2004).

Artichoke heads can be formed on the main or side shoots and branches. The main head weight was 120-250 g, and the weight of the secondary heads varied between 50-120 g (Özzambak et al., 2006; Sarı, 2012). In the BP, the heads are large and weigh around 150-200 gr. The average head weight (g) results obtained from our study were in agreement with previous studies.

#### *Head Quality Characteristics*

In this respect, head stem diameter (HSD; mm), head diameter (HD; cm), head height (HL; cm), and calycle diameter (CD; cm) were examined. JD gave the highest values (22.27 mm) in HSD in 2<sup>nd</sup> period, followed by BP (17.29 mm) and JD (13.58 mm) in 1<sup>st</sup> period. The best results were obtained from JD and 2<sup>nd</sup> cultivation (Table 4).

JD had the highest HD value (9.15 cm) in 2<sup>nd</sup> period, followed by JD (8.10 cm) and BP (7.40 cm) in 1<sup>st</sup> period. It was determined that JD and 2<sup>nd</sup> cultivation showed better results. In a study examining the water-yield relationship, head diameter values ranging from 12.09 – 12.69 cm and 12.22 – 12.61 cm were obtained from BP and Starline F1 cultivars, respectively (Yılmaz, 2015). When the yield and head quality characteristics of

the Emerald F1 were examined, the average head diameter was 4.62 cm (Duman and Nas, 2020). The results we obtained were following the

previous study conducted by Yılmaz (2015), and even better results were obtained than the findings of Duman and Nas (2020).

Table 4. Head stem diameter (HSD; mm), head diameter (HD; cm), head height (HL; cm), and calycle diameter (CD; cm) for varieties and growing periods (P).

	<i>P</i>	<i>HSD</i>	<i>HD</i>	<i>HL</i>	<i>CD</i>
<i>JD</i>	<i>1<sup>st</sup></i>	13.58 c	8.10 b	7.53 b	8.29 b
	<i>2<sup>nd</sup></i>	<b>22.27 a</b>	<b>9.15 a</b>	<b>9.36 a</b>	<b>9.93 a</b>
<i>BP</i>	<i>1<sup>st</sup></i>	17.29 b	7.40 c	7.18 b	8.18 b
	<i>2<sup>nd</sup></i>	0.00 d	0.00 d	0.00 c	0.00 c
		<i>LSD: 0.44</i>	<i>LSD: 0.29</i>	<i>LSD: 0.21</i>	<i>LSD: 0.26</i>

JD plants had the longest heads (9.36 cm) at HL planted in the 2<sup>nd</sup> period and the lowest values were obtained from BP with 7.18 and 7.53 cm planted in the 1<sup>st</sup> period. The average HL was between 9.81 and 10.51 cm in BP and Starline F1 cultivars (Yılmaz, 2015), while it was found to be 5.29 cm in canned artichoke cultivars (Duman and Nas, 2020). Our findings were similar to the results of Yılmaz (2015) and were higher than the findings of Duman and Nas (2020).

Similarly, JD had the highest value (9.93 cm) in the CD in 2<sup>nd</sup> period and the lowest values (8.18 and 8.29 cm ) were measured in BP in the 1<sup>st</sup> period. While the widest CD value of 8.51 cm in BP and Starline F1 formed a relatively smaller CD (Yılmaz, 2015). The CD values of the BP, showed similarity with the results obtained by Yılmaz (2015), while the JD produced higher values than the BP.

### Economic analyses

To be able to recommend the economical cultivation of artichoke as an alternative vegetable in Konya conditions, an economic analysis was made in comparison with tomato cultivation. The expense item and their cost taken into account in the economic analysis have been prepared by the manufacturer's conditions of Turkey in 2023.

As a result of the analysis, the tomato has achieved a relatively higher gain in the total amount of gain obtained from the unit area. However, since the unit cost of artichoke cultivation is lower than tomato, it has been

revealed that artichoke cultivation is a more profitable production method than tomato cultivation in terms of net income (Table 5). This result has revealed that artichoke can be grown economically in Konya and other regions with similar climates and that it can even be a more profitable production method than many products.

Table 5. Comparative economic analysis of artichoke with tomato.

<i>Expense items</i>	<i>Expense amount (TL da<sup>-1</sup>)</i>	
	<i>Tomato</i>	<i>Artichoke</i>
<i>Land leasing</i>	1600	1600
<i>Tillage</i>	320	320
<i>Fertigation</i>	2600	1800
<i>Irrigation system</i>	1520	1800
<i>Seedling</i>	11000	6000
<i>Irrigation</i>	6360	3880
<i>Disease and pest management</i>	5800	2000
<i>Labor</i>	5600	3400
<i>Total expense</i>	34800	20800
		7500 heads da <sup>-1</sup>
<i>Average yield</i>	6000 kg da <sup>-1</sup>	<sup>1</sup>
<i>Average price</i>	17	12
<i>Total income</i>	102000	90000
<b><i>Net profit</i></b>	<b>67200</b>	<b>69200</b>

### Conclusions

Although Konya has come to the fore with its products such as cereal group, sunflower, and carrot, vegetable agriculture has started to intensify with the spread of irrigated agriculture. In this process, the production areas of some vegetables such as watermelon and tomatoes, especially melons, have increased and the producer has been in search of the production of

alternative vegetable types that can have high profits. An alternative product has been offered to the Konya producer and its production is recommended in case of commercial activities. Thus, the possibilities of growing artichokes in regional conditions were investigated for the first time scientifically. The yield and quality characteristics were determined, and literature information was supported that will constitute a source for artichoke cultivation in Konya and other regions that have similar climates.

In light of the data we obtained from this study, in the artichoke cultivation to be carried out in Konya and regions with similar climatic conditions;

1) Early varieties with relatively shorter vegetation periods should be included.

2) Due to both tolerance to biotic and abiotic stress conditions and high productivity and fruit quality, F1 hybrid varieties should be used in cultivation.

3) Planting times should be shifted to earlier times as late April or early May.

4) To encourage earliness and regular head formation, GA<sub>3</sub> applications should be done regularly.

5) Humidity-increasing irrigation systems should be used in periods when the relative humidity is low.

6) Promotional activities should be carried out to reveal the consumption habits and thus the market demand.

#### **Acknowledgement:**

This research was produced from the first author's (CK) MSc. thesis (YOK Thesis No: 676856/Date: 2021).

#### **Conflict of interest:**

The authors declare that there are no personal and financial conflicts of interest within the scope of the study.

#### **Author contributions:**

CK and ESK conceptualized the study, developed the methodology, and validated the findings. CK

performed data analysis and visualized the data. ESK contributed to writing, editing, and reviewing the manuscript.

#### **References**

- Abak, K. (1987). Enginar ve Kuşkonmaz Yetiştiriciliği. Tav. Yayın (15), 64.
- Aktar, Y. (2019). Determination of active ingredient in *C. syriaca* and *C. scolymus* L. artichokes growing naturally in Siirt region. (MSc Thesis), Siirt University Institute of Science and Technology, Siirt.
- Allahdadi, M., & Farzane, P. (2018). Influence of different levels of nitrogen fertilizer on some phytochemical characteristics of artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6 (1), 109-115.
- Anonymous, (2023). Enginar ve kuşkonmaz yetiştiriciliği. Antalya İl Tarım ve Orman Müdürlüğü Koordinasyon ve Tarımsal Veriler Şube Müdürlüğü, 57 p.FAO, (2022).
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), <http://www.fao.org/site> (Accessed date: 12.05.2024).
- Bayraktar, K. (1981). Vegetable growing. Culture vegetables. Ege University Faculty of Agriculture Publication, (169), 418-435.
- Baytop, T. (1999). Herbal therapy in Turkey: past and present. Nobel Medicine Bookstores.
- Bölükbaşı, U. (2016). Semi-structured in-depth interview. Urla-Seferihisar-Çeşme Peninsula Artichokes. Urla-İzmir, 15 July 2016.
- Calabrese, N., & Bianco, V. (1998). Effect of gibberellic acid on yield and quality of seed grown artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). XXV International Horticultural Congress, Part 4: Culture Techniques with Special Emphasis on Environmental Implications, 514, 25-32.
- Calabrese, N., Vanadia, S., & Palma, E.D. (2004). Yield and quality of new seed propagated artichoke hybrid cultivars [*Cynara scolymus* L.; Apulia]. *Italus Hortus* (Italy), 11(5).
- Curadi, M., Picciarelli, P., Lorenzi, R., Graifenberg, A., & Geccarelli, N. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in the edible parts of early and late Italian artichoke (*Cynara scolymus* L.) varieties. *Italian Journal of Food Science*, 17(1), 33-44.
- Duman, İ., & Nas, Y. (2020). Determination of change in yield and quality characteristics in canned artichoke (*Cynara scolymus* L.) production from seed. *Ege University Journal of Faculty of Agriculture*, 1-7.
- Durmuş, F. , Özcan Sinir, G. , Şahin, K. G., & Çopur, Ö. U.

- (2020). Determination of physicochemical properties and antioxidant capacity of artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus* L.) jam produced from different cultivars. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 17 (2), 191-202. DOI: 10.33462/jotaf.621277
- Ekinci, A. (1956). *Modern vegetable*. Aegean Printing House, Istanbul.
- Eser, B., İlbi, H., Uğur, A. (2006). *Artichoke Cultivation*. Hasad Publishing, ISBN, 975-8377.
- Kenanoğlu Bektaş, D., & Saner, P. (2011). A Study on the Economy of Traditional and Organically Grown Artichokes: The Case of İzmir Province. *Izmir: Demfo Serdar De*.
- Keskin, L., & Namal, H. (2018). Artichoke Cultivation and Nutritional Content. *Turkish Journal of Agr.*, 69, 2-6.
- Llorach, R., Espin, J.C., Tomas-Barberan, F.A., & Ferreres, F. (2002). Artichoke (*Cynara scolymus* L.) byproducts as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (12), 3458-3464.
- Namal, H. (2019). The effects of different temperature regimes on seedling quality in artichoke (*Cynara scolymus* L.). (MSc Thesis) Selcuk University Institute of Science and Technology, Konya.
- Öztürk, B., Zengin, M., & Gökmen Yılmaz, F. (2020). Effects of potassium and zinc fertilization on the yield and yield components of artichoke. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 17 (2), 180-190. DOI: 10.33462/jotaf.605673.
- Özzambak, E., Uğur, A., & Zeybekoğlu, E. (2006). Artichoke Cultivation and Importance of Artichoke for Health. *Harvest Vegetable Production* 251, p.1.
- Portis, E., Acquadro, A., Comino, C., Mauromicale, G., Saba, E., & Lanteri, S. (2005). Genetic structure of island populations of wild cardoon *Cynara cardunculus* L. var. *sylvestris* (Lamk) Fiori] detected by AFLPs and SSRs. *Plant Science*, 169 (1), 199-210.
- Ryder, E. J., De Vos, N., Bari, M. (1983). The globe artichoke (*Cynara scolymus* L.). *HortScience*, 18 (5), 646-653.
- Santini, A., Lamaddalena, N., Severino, G., & Palladino, M. (2008). Irrigation in Mediterranean Agriculture: challenges and innovation for the next decades. *CIHEAM*, p.
- Sarı, N. (2012). *Horticulture II - Unit 9*. Eskişehir Anadolu University 2012.
- Sonnante, G., De Paolis, A., Lattanzio, V., & Perrino, P. (2002). Genetic variation in wild and cultivated artichoke revealed by RAPD markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 49 (3), 247-252.
- Thompson, H.C., & Kelly, W.C. (1957). *Vegetable Crops* 8. McGraw Hill Book Company Inc., New York, 23-25.
- Vural, H., Eşiyok, D., & Duman, İ. (2000). Cultured vegetables: Growing vegetables, 394-408.
- Wahba, H.E., Sarhan, A.Z., Salama, A.B., Sharaf-Eldin, M.A., & Gad, H.M. (2017). Effect of seasonal variation on the growth and chemical composition of *Cynara cardunculus* L. plants. *J. Mater. Environ. Sci.*, 8, 318-323.
- Yılmaz, A. (2015). Determination of water-yield relationships in two different artichoke cultivars (*Cynara scolymus* L. cv. Bayrampaşa and Starline F1) grown under greenhouse conditions. (MSc Thesis), Namık Kemal University Graduate School of Natural and Applied Sciences, Tekirdağ.



# Kimyasal gübrelerin etkinliğini artırmada rizobakteri (PGPR) ve yarasa gübresi uygulamalarının marulda (*Lactuca Sativa* L.) verim ve verim bileşenlerine etkileri

## *Effects of rhizobacteria (PGPR) and bat guano applications on yield and yield components in lettuce (*Lactuca Sativa* L.) in increasing the effectiveness of chemical fertilizers*

Yusuf ÇELİK<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Silifke Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Mersin Üniversitesi/ 33940 Silifke, Mersin/Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-8590-6690>

### To cite this article:

Çelik, Y. (2024). Kimyasal gübrelerin etkinliğini artırmada rizobakteri (PGPR) ve yarasa gübresi uygulamalarının marulda (*Lactuca Sativa* L.) verim ve verim bileşenlerine etkileri. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 616-624

DOI: 10.29050/harranziraat.1485530

### \*Address for Correspondence:

Yusuf ÇELİK

e-mail:

ycelik33@mersin.edu.tr

### Received Date:

17.05.2024

### Accepted Date:

15.11.2024

### ÖZ

Marul yetiştiriciliğinde yüksek verim için üreticiler gereğinden fazla kimyasal gübre uygulamaktadırlar. Bu anlayış bir takım gıda ve çevre sorunlarını beraberinde getirmektedir. Tesadüf parselleri deneme düzeninde dört tekerrürlü olarak planlanan çalışmada, marul yetiştiriciliğinde verim ve kalitenin artırılması amacıyla Bitki Gelişimini Destekleyen Rizobakteriler (PGPR), artan dozlarda Yarasa Gübresi (YG) ve %30 oranında azaltılmış kimyasal gübre (7/10 KG) uygulamaları tarla koşullarında denenmiştir. Denemede; marul baş çapı, baş uzunluğu, baş ağırlığı, yaprak sayısı, kök uzunluğu, yaprak yaş ve kuru ağırlığı, kök boğazı çapı, suda çözünen kuru madde miktarı (SÇKM) ve bitkilerde bazı besin elementi kapsamları analiz edilmiştir. Denemede, tekli uygulamalar (KG, YG, PGPR) ile farklı dozlarda yarasa gübresi ilaveli PGPR kombinasyonları (PGPR+YG) karşılaştırıldığında; PGPR+YG kombinasyonlarının marul bitkilerinin gelişimini, verimini ve yaprak besin elementi içeriklerini artırmıştır. Yapılan ölçümlere göre; Kontrol, PGPR+25kg/daYG+7/10KG, PGPR+50kg/da YG+7/10KG ve sadece PGPR kombinasyonu önerilen gübre dozu (KG)'den daha düşük değer alırken, PGPR+100kg/daYG+7/10KG ve PGPR+1500kg/da YG+7/10KG kombinasyonları yüksek değerler almışlardır. Verim unsurlarına etkisi bakımından en yüksek değerleri aynı önem seviyesinde olan PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG uygulamaları almış olup kontrol uygulamasına göre, bitki baş boyunda; %40.1, bitki baş çapında; %27.7, bitki kök boğazı çapında; 19.6, baş ağırlığında %82.2, kök uzunluğunda; %60.1, yaprak sayısında; 24.7,yaprak yaş ağırlığında; %21.6 yaprak kuru ağırlığında; %19.1 oranında göre artış sağlamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Gübreleme yönetimi, marul, bitki büyümesi, PGPR, yarasa gübresi

### ABSTRACT

For high efficiency in lettuce cultivation, producers apply more chemical fertilizers than necessary. This understanding brings with it a number of food and environmental problems. In the study, which was carried out with four replications according to the randomized block trial design, Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR), increasing doses of Bat Fertilizer (YG) and 30% reduced chemical fertilizer (7/10 KG) applications were tested under field conditions in order to increase the yield and quality of lettuce. In the study; Plant head height, head diameter, root collar diameter, leaf fresh and dry weight, root length, number of leaves, head weight, amount of water-soluble dry matter and some plant nutritional element contents were measured. In the study, when single YG,PGPR applications were compared with the combination of PGPR-added bat guano; It has been determined that PGPR+YG applications are more effective in increasing the yield, development and nutrient content of lettuce plants. According to the measurements



made; While the combination of control, PGPR+25 kg/da YG+7/10 KG and only PGPR alone received lower values than the recommended fertilizer dose (KG), PGPR+50kg/da YG+7/10KG, PGPR+100kg/da YG+7/ 10KG, and PGPR+150kg/da YG+7/10KG combinations received high values. PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG applications, which are at the same level of importance, had the highest values in terms of their impact on yield elements. According to the control application, at plant head height; 30.7%, plant head diameter; 21.2% plant root collar diameter; 19.6, 49% in head weight, root length; 60.1%, number of leaves; 24.7% in leaf fresh weight; 21.6% in leaf dry weight; It increased by 19.1%.

**Key Words:** Fertilization management, lettuce, plant growth, PGPR, bat guano

## Giriş

Marul (*Lactuca sativa* L.), serin iklime sahip tüm bölgelerde yetişebilen yapraklı bir sebzedir (Mou, 2008; Sabatino, 2021). Günümüzde marul'un şikori ile birlikte üretimi bir milyon hektardan fazla alanda yapılmakta ve 22 milyon tonun üzerinde ürün elde edilmektedir (FAOSTAT,2021). Marul Yapraklarının İçeriği Vitaminler, mineraller, şekerler, folik asit ve diyet antioksidanları açısından zengin ve kalorisi düşüktür (Nicolle ve ark., 2004). Sebze yetiştiriciliğinde son yıllarda değişik stratejik çalışmalara ağırlık verilmiştir (Mauro ve ark., 2020). Yaprığı yenen sebze gruplarında bitkisel gelişim ve verim için aşırı miktarlarda kimyasal gübreler; başta azot (N), fosfor (F) ve potasyum (K) uygulanmaktadır(Solaiman ve ark.,2006; Zaidi ve ark., 2015; Sabatino ve ark., 2020). Ancak sentetik gübrelerin sürekli kullanımı ekosistemin bozulması açısından risk oluşturmaktadır. Bitki Büyümesini Destekleyen Rizobakterilerin (PGPR) doğrudan etkileri, azotun biyolojik fiksasyonu gibi bitki besin elementlerini veya fosfor (P), potasyum (K), çinko (Zn), demir (Fe) gibi çözünmüş mineralleri ve diğer temel mineral besin maddelerini sağlamaktır (Acurio Vásconez ve ark.,2020; Basu ve ark.,2021). Bu bitki büyümesini ve sağlığını destekler. PGPR'ler, oksinler, sitokininler, gibberellinler, absisik asit ve etilen dahil olmak üzere bitkilerdeki fitohormon seviyelerini düzenleyebilirler. PGPR'ler, bu fitohormonların seviyelerini modüle ederek bitki büyümesinin kök ve sürgün gelişimi, çiçeklenme ve stres toleransı gibi çeşitli yönlerini etkileyebilmektedir (El-Tohamy ve ark.,2012). PGPR'lerin dolaylı etkileri fitopatogenleri ve zararlı mikroorganizmaları baskılamaktadır(Basu ve ark.,2021). Yarasa gübresi uzun süredir farklı

ülkelerde çıkarılmakta ve makro ve mikro besinlerdeki yüksek içeriği nedeniyle biyogübre olarak kullanılmaktadır (Martini ve ark.,1978; Palita ve ark., 2021). Yarasalar, Antarktika hariç tüm kıtalarda, memeli taksonlarının %20'sini temsil eden yaklaşık 1300 türle mevcuttur (Gallant ve ark., 2020). Binlerce yarasa, yüzyıllar boyunca biriktiği, yaşadığı mağaralara dışkısını bırakarak sertleşerek guanoya dönüşmektedir (Ünal ve ark., 2018). Guano'nun mineral bileşimi, yarasa türlerine ve ana beslenmelerine ve ayrıca yaşadıkları mağaraların kuru veya nemli iklim bölgelerinde bulunmasına bağlı olarak çok değişkendir (Audra ve ark., 2021). Bununla birlikte, çeşitli çalışmalar yarasa guanosunun toprak verimliliği ve bitki beslenmesi üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu göstermiştir (Karagöz ve Hanay, 2017). Türkiye sahip olduğu çok sayıda yarasa gübresi mağarası (40000 adet)bakımından Avrupa çapında yüksek bir rezerve sahiptir(Karagöz, 2014). Bu çalışmanın amacı, daha az kimyasal gübre kullanmak, marul üretiminde verimi en üst düzeye çıkarmak ve PGPR kullanımını artırarak toprak ve gıda güvenliğine katkıda bulunmaktır.

## Materyal ve Metot

### Çalışmada yetiştirilen marul çeşidine ait özellikler

Lital marul çeşidi sıkı oval gövdeli, koyu yeşil ve çok yapraklıdır. Yüksek sıcaklıklara (28-30°C) diğer marul çeşitlerine göre daha toleranslıdır. Orta erkenci bir çeşit olup sonbahar yetiştiriciliği için uygundur. Tohum ekim döneminde sıcaklık 18-22 °C arasında olmalıdır. Fide gelişim döneminde yeterli ışıklı (günde 10 ila 12 saat arası) ortam sağlanmalıdır.

Çizelge 1. Çalışma alanının 2022-2023 aylık ortalama meteorolojik verileri

Table 1. 2022-2023 monthly mean meteorological datas of study area

Yıllar	İklim Parametreleri	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık
2022	Tmax, °C	34.26	32.73	28.87	23.97	19.38
	Tmin, °C	25.26	22.90	20.22	15.13	11.78
	RH, %	61.00	51.00	49.00	53.00	57.00
	Buharlaştırma, mm	172.80	165.90	127.80	59.90	44.90
	Rüzgar hızı m/s	1.10	1.30	1.50	0.90	1.00
	Yağış, mm	1.00	1.20	32.00	59.80	29.80
2023	Tmax, °C	35.25	33.54	30.30	23.97	20.24
	Tmin, °C	26.12	24.14	20.24	15.38	11.99
	RH, %	61.00	51.00	50.00	59.00	59.00
	Buharlaştırma, mm	177.40	201.80	122.20	65.60	41.50
	Rüzgar hızı m/s	1.10	1.50	1.00	0.80	0.70
	Yağış, mm	6.40	0.02	34.00	124.00	143.00
Uzun dönem (1975-2022)	Tmean, °C	28.90	26.43	22.38	16.61	12.04
	Rainfall, mm	0.98	6.19	37.13	82.48	126.50

Tmax – Maksimum hava sıcaklığı; Tmin – minimum hava sıcaklığı; RH – bağıl nem; Tmean – ortalama hava sıcaklığı

Çizelge 2. Deneme alanının toprak özellikleri

Table 2. Soil properties of the experimental area

Toprak derinliği (cm)	FC (%)	WP (%)	BD (g/cm <sup>3</sup> )	pH	EC (dS/m)	SOC (%)	CaCO <sub>3</sub> (%)
0-30	30.84	20.16	1.38	7.72	0.75	2.36	39.84
30-60	28.94	19.68	1.56	7.88	0.80	1.03	41.36
60-90	28.61	13.73	1.59	8.14	0.95	0.82	44.21

FC – saha kapasitesi; WP– kalıcı yaban noktası; BD– yığın yoğunluğu; EC– elektriksel iletkenlik;CaCO<sub>3</sub>–kalsiyum karbonat; SOC – toprak organik karbonu

### Denemede kullanılan rizobakteriler ve genel özellikleri

Çalışmada kullanılan rizobakteri, Yeni Nesil Biyoteknoloji, ticari bir firmadan temin edilmekte olup ticari adı Rhizofill' dir. Rhizofill üç farklı saf kültür bakterisinden oluşur: Bacillus subtilis, Bacillus megaterium ve Pseudomonas fluorescens. Mililitre başına  $1 \times 10^9$  koloni oluşturan birim

konsantrasyonundaki 50 ml'lik Rhizofill hacmi, 10 günlük aralıklar ile 50 L'lik bir besin çözeltisi tankı (litre başına 1 ml) içindeki kök ortamına aşılanmıştır(Dasgan ve ark. 2022; Dasgan ve ark. 2023a; Dasgan ve ark. 2023b).

### Denemede kullanılan yarasa gübresi içerikleri

Çizelge 3. Denemede kullanılan yarasa gübresinin özellikleri.

Table 3. Properties of bat guano used in the experiment

Garanti edilen içerik	(W/W)
Toplam organik madde	%40
Organik karbon	%15
Toplam azot (N)	%2
Suda çözünür potasyumoksit (K <sub>2</sub> O)	%2
Toplam fosfor pentaoksit (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	%1
Toplam humikasit+ fulvikasit	%20
pH aralığı	5-7
Maksimum nem	%20
Maksimum EC ( dS/m)	3.5
Serbest aminoasitler %3	%3

### *Çalışmada uygulanan gübreler ve uygulama yöntemleri*

Çalışmada; toprak analiz sonuçlarına göre  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ : 22 kg.da<sup>-1</sup>,  $\text{P}_2\text{O}_5$ : 12kg.da<sup>-1</sup> ve  $\text{K}_2\text{SO}_4$ : 22 kg.da<sup>-1</sup> olarak belirlendi ve %30 azaltılmış miktarları dikimden önce parsel bazında sıralara granül formu, bir seferde uygulanmıştır.

### *Yarasa gübresi uygulamaları*

Çalışma'da yarasa gübresinin granül formu kullanılmıştır. Çalışma kapsamında belirlenen yarasa gübresi dozları dikimden önce bitki dikim parsellerinde açılan toprak sıralara bir seferde uygulanarak karıştırılmıştır.

### *Laboratuvar analizleri*

Toprak örnekleri laboratuvar analizinden önce açık havada kurutulmuş ve elenmiştir (2 mm ağ gözü). Toprak numuneleri pH ( $\text{H}_2\text{O}$ , KCl) (toprak: çözelti, 1:2,5), CEC (amonyum asetat, pH 7,0), değişim asitliği (KCl ekstraksiyonu), kolayca oksitlenebilir C (yaş yakma, Walkley-Black yöntemi), toplam organik C (yakma), P ve K (amonyum laktat) ve tekstür (toprak fraksiyonları kil, silt ve kum) (Van Reeuwijk, L.P,2002). Topraktaki bor (B), sıcak su kullanılarak ekstrakte edilmiş ve azometin-H yöntemiyle belirlenmiştir (Jones, J.J,2001). Toprak Fe, Zn, manganez (Mn) ve bakır (Cu), amonyum asetat ve EDTA kullanılarak ekstrakte edilmiş ve atomik absorpsiyon spektrometrisi yoluyla belirlenmiştir.

Marul örnekleri 70 °C'de (1 mm gözenek) bir etüvde kurutulup ve sonra öğütülmüştür. Yaprak örnekleri N için Kjeldahl (1883) yöntemiyle; P ve B için kolorimetriyle; K için alev emisyon spektrometrisiyle; ve Ca, Mg, Cu, Fe, Zn ve Mn için atomik absorpsiyon spektrofotometrisiyle (Temminghoff ve ark. 2004) analiz edilmiştir. Toplam organik madde guano yakma yöntemi ile (kül fırınında 550 ± 50 °C'de 1 gece yakıldıktan sonra ağırlık azalmasından) hesaplanarak bulunmuştur (Hornech vd. 1989). Reaksiyon, 1:2.5 oranında saf su ile sulandırılmış yarasa gübresi örneğinde cam elektrotlu pH metre ile belirlenmiştir (Gabriels ve Verdonck 1992).

### *Deneme alanı tasarımı*

Bu çalışma, 2023 yıllı güz döneminde Mersin Üniversitesi Silifke Meslek Yüksek Okulu araştırma ve uygulama alanlarında tarla şartlarında yürütülmüştür. Denemede kullanılan Lital F<sub>1</sub> marul çeşidine ait fidelerin üretimi Silifke Meslek Yüksek Okuluna ait plastik tünellerde gerçekleştirilmiştir. Tohum ekimi; 8.09.2023 tarihinde Torf: perlit oranı 2:1 olan viyollerde yapılmıştır. Usulüne uygun olarak yetiştirilen fideler yaklaşık 10-12 cm boya 3-5 yapraklı dönemde 11.10.2023 tarihlerinde araştırma alanında uygun parsellere dikimleri yapılmış ve yaklaşık 70 gün sonra deneme sonlandırılmıştır. Tesadüf blokları deneme desenine göre dört tekerrürlü planlanmış denemede 8 uygulama ve her uygulamada 4 sıra, her sırada 10 bitki bulunan toplam 1280 bitki dikimi yapılmıştır. Denemede sıra üzeri 25 cm, sıra arası 30 cm şeklinde dikim sıklığı uygulanmıştır. Çalışmada yapılan ölçümler için örnek bitki seçimi; kenar tesiri taşımayan ve parsel ortasından her uygulama için ortalamayı temsil eden 8 bitki alınmıştır.

### *Veri analizi*

Deneyden elde edilen veriler "IBM SPSS stastics 23" istatistik programları kullanılarak ANOVA varyans analizine göre değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkların karşılaştırılmasında Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır.

### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

Bu çalışmanın sonuçları, PGPR, yarasa gübresi ve %30 oranında azaltılmış kimyasal gübre kullanımı sonucunda incelenen bitki büyüme parametrelerinde önemli artışlar meydana gelmiş dolayısıyla marul tarımında verim ve kalitenin arttığını, verim için daha elverişli toprak ortamının oluştuğu düşünülmektedir. Bu gelişmelere göre uygun toprak şartlarında PGPR'ler ile yarasa gübresi arasında sinerjistik bir etkinin varlığından söz edebilir. Farklı yarasa gübresi dozları ve PGPR



uygulamalarının bitki baş uzunluğu üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4). Uygulamaların bitki baş uzunluğuna etkisinde en yüksek değerleri alan PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (35.3cm) uygulamaları aynı grupta yer almışlardır. En düşük değer kontrol (25.2cm) uygulamasından elde edilmiştir. Bitki baş uzunluğunda maksimum değer elde edildiği PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (35.3cm) uygulaması kontrole göre % 40.1 oranında artış sağlamıştır. Bitki gelişimini destekleyen rizobakteriler ve yarasa gübresinin kombinasyon şeklinde uygulanması marulun baş boyunun büyümesine önemli etkisi olmuştur. Bitki baş çapında en yüksek değerleri KG, PGPR+50kg/da YG+7/10 KG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG(36.8 cm), PGPR+150kg/da YG+7/10 KG uygulamalarından elde edilirken, en düşük değer Kontrol (29.6 cm) uygulamasından elde edilmiştir. Maksimum bitki baş çapının elde edildiği PGPR+100kg/da YG+7/10 KG(37.8 cm) uygulaması kontrol uygulamasına göre % 27.7, tam doz KG'ye göre %1.7 oranında artış göstermiştir. Bitki kök boğazı çapında en yüksek değer KG, PGPR+50kg/da YG+7/10 KG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG(33mm), uygulamalarında, en düşük değer ise Kontrol (27.6mm) uygulamasından elde edilmiştir. En yüksek değer elde edildiği PGPR+100kg/da YG+7/10 KG(33mm) uygulaması kontrole göre %19.6 oranında artış sağlamıştır. Bitki baş ağırlığı bakımından En yüksek değer PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10KG(1.64kg) uygulamalarından elde edilirken, minimum değer Kontrol (1.1kg) uygulamasından elde edilmiştir. Bitki baş ağırlığında en yüksek değer alındığı uygulama kontrole göre 82.2, tam doz KG' ye göre % 1.3 oranında artış sağlamıştır. Çalışmamız ile benzer sonuçlar gösteren bazı çalışmalar; Dasgan ve ark.(2022)'a göre PGPR, fesleğen yaprak verimini %50 mineral gübre uygulamasına kıyasla %18,94 artırmıştır. Rostaminia ve ark.(2021) çeşitli *Pseudomonas* bakteri türlerini kullanarak marul veriminde %10-20 oranında artış olduğunu

belgelemiştir. Bitki kök uzunluğu bakımından PGPR, KG, PGPR+50kg/da YG+7/10 KG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (12.1 cm) uygulamaları aynı önem seviyesinde değer almışlardır. En düşük değer kontrol (7.5cm) uygulamasından elde edilmiştir. Bitki kök uzunluğunda en yüksek değer elde edildiği PGPR+150kg/da YG+7/10 KG uygulaması kontrol uygulamasına göre %60.1 oranında artış göstermiştir. Bitki yaprak sayısı bakımından PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (46.5 adet/bitki) uygulaması en yüksek değerleri almışlardır. En düşük değer kontrol (37.3 adet/bitki) uygulamasından elde edilmiştir (Çizelge 5). Bitki yaprak sayısında en yüksek değer elde edildiği PGPR+150 kg/da YG+7/10 KG uygulaması kontrol uygulamasına göre %24.7, tam doz KG'göre %5.2 oranında artış göstermiştir. SKÇM ölçüm sonuçları istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuştur. Bitki yaprak yaş ağırlığı bakımından PGPR+100kg/da YG+7/10 KG (145.7g) uygulaması en yüksek değeri alırken en düşük değer kontrol (127.9g) uygulamasından elde edilmiştir. Bitki yaprak yaş ağırlığında en yüksek değer elde edildiği PGPR+100kg/da YG+7/10 KG uygulaması kontrol uygulamasına göre %21.6, tam doz KG'ye göre %2.08 oranında artış göstermiştir. Bitki yaprak kuru ağırlığı bakımından PGPR+100kg/da YG+7/10 KG (13.7g) uygulaması en yüksek değeri alırken en düşük değer kontrol (11.5g) uygulamasından elde edilmiştir. Bitki yaprak kuru ağırlığında en yüksek değer elde edildiği PGPR+150kg/da YG+7/10 KG uygulaması kontrol uygulamasına göre %19.1, tam doz KG' ye göre %6.2 oranında artış göstermiştir. PGPR'lere yarasa gübresinin dahil edilmesi tek başına PGPR'lere göre verim bileşenlerine etkisi daha fazla olmuştur. Çalışmamız ile benzer sonuçlar gösteren bir çalışmada; Marul bitkilerine bakteri suşları aşılandığında bitki boyu, bitki kuru maddesi, bitki kalınlığı, kök ağırlığı ve kök kuru maddesi gibi çeşitli büyüme göstergelerinde kontrol bitkilerine göre önemli bir artış sağladığını bildirmiştir (Acurio Vásconez ve ark.2020).

Çizelge 4. Farklı dozlarda yarasa gübresi, PGPR ve %30 oranında azaltılmış kimyasal gübre uygulamalarının marul (*Lactuca sativa* L.) Yetiştiriciliğinde bitki büyüme parametrelerine etkisi

Table 4. Effects of different doses of bat guano, PGPR and 30% reduced chemical fertilizer applications on plant growth parameters in lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivation

Uygulamalar	Baş Boyu (cm)	Baş Çapı (cm)	Kök Boğazı çapı (mm)	Baş Ağırlığı (kg)	Kök uzunluğu (cm)
Kontrol	25.2+-0.9d	29.6.2+-0.9e	27.6+-1c	0.9 +-0.1e	7.6+-0.5b
YG	29.3+-0.6c	33+-0.5d	30.1+-1,2b	1.55+-0bcd	9.5+-0.4a
KG	34.7+-0.7ab	37+-0.5a	32.5+-0.6ab	1.6+-0b	10.9+-0.5a
PGPR	34.1+-0.7ab	36.1+-0.4ab	32+-1.1ab	1.52+-0d	10.2+-0.5a
PGPR+25kg/da YG+ 7/10 KG	33.3+-0.5b	35.3+-0.4bc	32+-0.8ab	1.55+-0cd	10.6+-0.9a
PGPR+50kg/da YG+ 7/10 KG	34.6+-0.4ab	37.2+-0.7a	32.8+-0.7ab	1.58+-0bc	11+-0.9a
PGPR+100kg/da YG+ 7/10 KG	35.3+-0.3a	37.8+-0.4a	33+-0.4a	1.64+-0a	11.2+-0.6a
PGPR+150kg/da YG+7/10 KG	34.8+-0.4ab	37.6+-0.4a	32.8+-0.7ab	1.62+-0a	11.6+-1.1a
<b>Ortalama</b>	<b>32.9</b>	<b>35.7</b>	<b>31.6</b>	<b>1.52</b>	<b>10.33</b>

YG; Yarasa gübresi, KG: Kimyasal gübre, Aynı sütundaki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testine göre p=0,05'te 8 uygulama arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları gösterir.

Çizelge 5. Farklı dozlarda yarasa gübresi, PGPR ve %30 oranında azaltılmış kimyasal gübre uygulamalarının marul (*Lactuca sativa*L.) Yetiştiriciliğinde bitki büyüme parametrelerine etkisi

Table 5. Effects of different doses of bat guano, PGPR and 30% reduced chemical fertilizer applications on plant growth parameters in lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivation

Uygulamalar	Yaprak Sayısı (adet/bitki)	SÇKM(%)	Yaprak yaş ağırlığı(g)	Yaprak kuru ağırlığı(g)
Kontrol	36.8+-0.4e	3.6+-0.6b	117.3+-3.4c	11.5+-1.1a
YG	36.6+-1.1e	3.8+-0.1a	132.9+-2.8abc	12.7+-1a
KG	43.6+-0.3bcd	3.5+-0.3b	139.4+-3.5abc	12.9+-0.5a
PGPR	41.7+-0.5d	3.5+-0.3b	131.3+-4.6bc	12.1+-0.6a
PGPR+25kg/da YG+7/10 KG	42.4+-0.7cd	3.5+-0.3b	137.4+-1.7abc	12.8+-0.6a
PGPR+50kg/da YG+7/10 KG	44.2+-0.4abc	3.5+-0.2b	138.5+-5abc	13.4+-0.7a
PGPR+100kg/da YG+7/10 KG	45.4+-0.5ab	3.5+-0.6b	142.6+-5a	13.7+-0.5a
PGPR+150kg/da YG+7/10 KG	45.9+-0.4a	3.6+-0.6b	142.3+-3.3a	13.6+-1.1a
<b>Ortalama</b>	<b>42.1</b>	<b>3.56</b>	<b>135.2</b>	<b>12.83</b>

YG; Yarasa gübresi, KG: Kimyasal gübre, Aynı sütundaki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testine göre p=0,05'te 8 uygulama arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları gösterir.

Bitkilerin besin elementi içerikleri değerlendirildiğinde N içeriklerinde en yüksek değer aynı önem seviyesinde değer alan PGPR+50kg/da YG+7/10 KG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG(%3.7), PGPR+150kg/da YG+7/10 KG

uygulamalarından elde edilmiş (Çizelge 6), yarasa gübresinin en yüksek dozları en düşük değer alan kontrol (%2.8) uygulamasına göre %32.1 oranında artış sağlanmıştır. PGPR'lerin N fikseri görevi görmesi yaprak N içeriklerini artırmasında etkili

olduğu düşünülmektedir. Bitkilerin P içeriklerine göre KG, PGPR+50kg/da YG+7/10KG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (%0.5) uygulamaları aynı önem seviyesinde en yüksek değeri alırken kontrol(% 0.3) uygulamasına göre % 66.6 artış sağlanmıştır. Bitkilerin K içeriklerinde PGPR+100kg/da YG+7/10 KG (%4.6) uygulaması en yüksek değeri alırken kontrol(% 2.7) göre % 70.4 artış sağlanmıştır. Bitkilerin Ca içerikleri ölçümlerine göre PGPR+100kg/da YG+7/10 KG (%2.1 ) uygulamasından en yüksek elde edilirken en düşük değer alan kontrol (%1.7) uygulamasına göre% 23.5 oranında artış olmuştur. Mg ölçümlerinde KG, PGPR, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (%0.5) uygulamaları aynı önem seviyesinde en yüksek değerleri almış olup kontrol (%0.3) uygulamasına göre %66.6 artış yapmıştır. Yaprak Fe içerikleri açısından PGPR, KG, YG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG(169.2 mg kg<sup>-1</sup>), PGPR+150kg/da YG+7/10 KG uygulamaları aynı önem seviyesinde en yüksek değerleri almış olup

kontrol(131.4 mg kg<sup>-1</sup>) uygulamasına göre %28.8 artış yapmıştır (Çizelge 7). Uygulamaların yaprak Zn içeriklerine etkisi istatistiksel anlamda önemsiz bulunmuş ancak yarası gübresinin artan dozlarının yaprak Zn içeriklerini artırmıştır. Yaprak Mn içerikleri ölçüldüğünde, PGPR+50kg/da YG+7/10 KG, PGPR+100kg/da YG+7/10 KG, PGPR+150kg/da YG+7/10 KG (%3.5) uygulamaları aynı önem seviyesinde en yüksek değerleri almış olup kontrol (%2.6) uygulamasına göre %34.6 artış yapmıştır. Yüksek yarası dozlarının yaprak Cu içeriklerini sınırlandırdığını aksine kontrol uygulaması ve PGPR+25kg/da YG+7/10 KG uygulamalarının Cu alımını artırdığı saptanmıştır. Çalışmamız ile benzer sonuçlar gösteren başka çalışmalarda ; Farklı etki biçimlerine sahip PGPR'lerin bitki beslenmesinde önemli rolü, azot, potasyum, çinko ve demir gibi temel minerallerin, özellikle fosforun çözünürlüğünü, alınımını ve biyoyararlanımını artırmıştır(Acurio Vásquez ve ark., 2020; Basu ve ark., 2021; Khatoon ve ark., 2020).

Çizelge 6. Farklı dozlarda yarası gübresi, PGPR ve %30 oranında azaltılmış kimyasal gübre uygulamalarının marul (*Lactuca sativa*L.) Yetiştiriciliğinde bitki besin içeriklerine etkisi

Table 6. Effect of different doses of bat guano, PGPR and 30% reduced chemical fertilizer applications on plant nutrient contents in lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivation

Uygulamalar	N(%)	P(%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)
Kontrol	2.8+-0.1c	0.3+-0c	2.7+-0.2d	1.7+-0b	0.3+-0b
YG	3.1+-0.1b	0.4+-0bc	4.2+-0.1bc	1.7+-0.1b	0.5+-0a
KG	3.6+-0.1a	0.5+-0ab	4.3+-0.1abc	1.9+-0.1ab	0.5+-0a
PGPR	3.3+-0.1b	0.5+-0ab	4.1+-0.2bc	1.7+-0.2b	0.4+-0a
PGPR+25kg/da YG+7/10 KG	3.1+-0.1b	0.4+-0ab	4+-0,1c	1.7+-0.1b	0.5+-0a
PGPR+50kg/da YG+7/10 KG	3.6+-0a	0.5+-0a	4.5+-0.1abc	1.9+-0.1ab	0.5+-0a
PGPR+100kg/da YG+7/10 KG	3.7+-0a	0.5+-0a	4.6+-0.1a	2.1+-0.2a	0.5+-0a
PGPR+150kg/da YG+7/10 KG	3.7+-0a	0.5+-0a	4.5+-0.1ab	1.9+-0.1ab	0.5+-0a
<b>Ortalama</b>	<b>3.36</b>	<b>0.45</b>	<b>4.11</b>	<b>1.82</b>	<b>0.46</b>

YG; Yarası gübresi, KG: Kimyasal gübre, Aynı sütundaki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testine göre p=0,05'te 8 uygulama arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları gösterir.

Çizelge 7. Farklı dozlarda yarasa gübresi, PGPR ve %30 oranında azaltılmış kimyasal gübre uygulamalarının marul (*Lactuca sativa*L.) Yetiştiriciliğinde bitki besin içeriklerine etkisi

Table 7. Effect of different doses of bat guano, PGPR and 30% reduced chemical fertilizer applications on plant nutrient contents in lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivation

Uygulamalar	Fe (mg kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )	Mn(%)	Cu(mg kg <sup>-1</sup> )
Kontrol	131.4+-6b	56.9+-4a	2.6+-0.1b	11.5+-2ab
YG	158.3+-5a	63.3+-4a	3.1+-0.5ab	10.9+-2a
KG	166.5+-7a	65.1+-4a	3.2+-0.3ab	8.1+-2ab
PGPR	161.1+-5a	63.9+-4a	3.2+-0.2ab	8.3+-1ab
PGPR+25kg/da YG+7/10 KG	160.3+-6a	59.9+-5a	3.4+-0.1a	8.6+-1ab
PGPR+50kg/da YG+7/10 KG	164.3+-10a	62.2+-5a	3.5+-0.1a	7.1+-1b
PGPR+100kg/da YG+7/10 KG	169.2+-8a	63.2+-4a	3.5+-0.1a	7.9+-1ab
PGPR+150kg/da YG+7/10 KG	165.7+-5a	61.1+-2a	3.5+-0.1a	8.9+-1ab
<b>Ortalama</b>	<b>159.6</b>	<b>61.95</b>	<b>3.25</b>	<b>8.91</b>

YG; Yarasa gübresi, KG: Kimyasal gübre, Aynı sütündeki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testine göre p=0,05'te 8 uygulama arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları gösterir.

## Sonuçlar

Marul yetiştiriciliğinde yarasa gübresi ve PGPR birlikte kullanılarak mineral gübre miktarları azaltılabilir. Çalışmamızın sonuçlarına göre kullanılan gübre kombinasyonlarında mineral gübreler %30 oranında azaltılabilir. Bu durumda sadece kimyasal gübre ve sadece PGPR uygulamalarında verim ve verim bileşenlerinde azalmalar görülmüştür. Ölçüm ve analiz sonuçlarına göre hem biyomas ölçümler hem de yaprak besin elementi kapsamı değerlendirildiğinde; uygulanan kombinasyonlar kapsamında yarasa gübresindeki doz artışları etkisini gösterilmiştir. Tüm uygulamalar kontrole göre artış gösterirken PGPR+100kg/da YG+7/10 KG ve PGPR+150kg/da YG+7/10 KG uygulamaları aynı önem seviyesinde en etkili dozlar olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre ekonomik marul üretimi için PGPR+100kg/da YG+7/10 KG dozunun uygulanması yararlı görülmektedir. Bu çalışma ile yaprakları tüketilen marulun kimyasal gübrelere daha az maruz bırakılarak PGPR ve yarasa gübrelemesinin işbirliği ile daha az kalıntı ile daha sağlıklı ürünlerin tüketimi de amaçlanmış olacaktır. Aynı zamanda ülke ekonomisine ve toprağa yararlılık anlamında PGPR ve yarasa gübresi kullanımının katkısı fazla olacaktır.

## Çıkar Çatışması

Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

## Yazar Katkısı

Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan eder.

## Kaynaklar

- Audra, P., Heresanu, V., Barriquand, L., Boutchich, M. E. K., Jaillet, S., Pons-Branchu, E., ... & Renda, M. (2021). Bat guano minerals and mineralization processes in Chameau Cave, Eastern Morocco. *International Journal of Speleology*, 50(1), 91-109.
- Acurio Vásquez, R. D., Mamarandi Mossot, J. E., Ojeda Shagñay, A. G., Tenorio Moya, E. M., Chiluisa Utreras, V. P., & Vaca Suquillo, I. D. L. Á. (2020). Evaluation of *Bacillus* spp. as plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) in broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) and lettuce (*Lactuca sativa*). *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 21(3).
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & El Enshasy, H. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability*, 13(3), 1140.
- Gallant, L. R., Grooms, C., Kimpe, L. E., Smol, J. P., Bogdanowicz, W., Stewart, R. S., ... & Blais, J. M. (2020). A bat guano deposit in Jamaica recorded agricultural changes and metal exposure over the last 4300 years. *Palaeogeography*,

- palaeoclimatology, palaeoecology*, 538, 109470.
- Gabriels, R., & Verdonck, O. (1992). Reference methods for analysis of compost. *Composting and compost quality assurance criteria*, 173-183.
- Dasgan, H. Y., Aldiyab, A., Elgudayem, F., İkiz, B., & Gruda, N. S. (2022). Effect of biofertilizers on leaf yield, nitrate amount, mineral content and antioxidants of basil (*Ocimum basilicum* L.) in a floating culture. *Scientific Reports*, 12(1), 20917.
- Dasgan, H. Y., Kacmaz, S., Arpacı, B. B., İkiz, B., & Gruda, N. S. (2023). Biofertilizers improve the leaf quality of hydroponically grown baby spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Agronomy*, 13(2), 575.
- Dasgan, H. Y., Yilmaz, D., Zikaria, K., İkiz, B., & Gruda, N. S. (2023). Enhancing the yield, quality and antioxidant content of lettuce through innovative and eco-friendly biofertilizer practices in hydroponics. *Horticulturae*, 9(12), 1274.
- El-Tohamy, W. A., El-Abagy, H. M., El-Greadly, N. H. M., & Gruda, N. (2012). Hormonal changes, growth and yield of tomato plants in response to chemical and bio-fertilization application in sandy soils. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 82(2), 179-182.
- FAOSTAT. (2021). Available online: <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (accessed on 17 November 2021).
- Jones, J. B. (2001). *Laboratory guide for conducting soil tests and plant analysis*. CRC press.
- Horneck, D. A., Hart, J. M., Topper, K., & Koepsell, B. (1989). Methods of soil analysis used in the soil testing laboratory at Oregon State University.
- Karagöz, K. (2014). Yarasa gübresinin tarımda kullanımla olanakları. *Alinteri Ziraat Bilimleri Dergisi*, 27(2), 35-42.
- Karagöz, K., & Hanay, A. (2017). Effects of bat guano on some yield parameters of wheat. *Acad. J. Environ. Sci*, 5(11), 200-206.
- Kjeldahl, J. (1883). Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22(1), 366-382.
- Khatoon, Z., Huang, S., Rafique, M., Fakhar, A., Kamran, M. A., & Santoyo, G. (2020). Unlocking the potential of plant growth-promoting rhizobacteria on soil health and the sustainability of agricultural systems. *Journal of Environmental Management*, 273, 111118.
- Mauro, R. P., Agnello, M., Distefano, M., Sabatino, L., San Bautista Primo, A., Leonardi, C., & Giuffrida, F. (2020). Chlorophyll fluorescence, photosynthesis and growth of tomato plants as affected by long-term oxygen root zone deprivation and grafting. *Agronomy*, 10(1), 137.
- Martini, J. & Kavalieris, I. (1978). Mineralogy of the Transvaal caves. *South African Journal of Geology*, 81(1), 47-54.
- Mou, B. Lettuce. In *Vegetables I*; Prohens, J., Nuez, F., Eds.; Springer: New York, NY, USA, 2008; pp. 75-116.
- Nicolle, C., Carnat, A., Fraise, D., Lamaison, J. L., Rock, E., Michel, H., ... & Remesy, C. (2004). Characterisation and variation of antioxidant micronutrients in lettuce (*Lactuca sativa* folium). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(15), 2061-2069.
- Palita, S.K., Panigrahi, R., & Panda, D.(2021). Potentiality of bat guano as organic manure for improvement of growth and photosynthetic response in crop plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B* , 91, 185-193.
- Rostaminia, M., Habibi, D., Shahbzi, S., Sani, B., & Pazoki, A. (2021). Effect of three commercial bio-fertilizers prepared with *Pseudomonas* on yield and morphophysiological traits of lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Iran Agric. Res.* 39(2), 99-107.
- Sabatino, L., Iapichino, G., La Bella, S., Tuttolomondo, T., D'Anna, F., Cardarelli, M., ... & Roupheal, Y. (2020). An appraisal of calcium cyanamide as alternative n source for spring-summer and fall season curly endive crops: Effects on crop performance, NUE and functional quality components. *Agronomy*, 10(9), 1357.
- Sabatino, L., Consentino, B. B., Roupheal, Y., De Pasquale, C., Iapichino, G., D'Anna, F., & La Bella, S. (2021). Protein hydrolysates and mo-biofortification interactively modulate plant performance and quality of 'canasta'lettuce grown in a protected environment. *Agronomy*, 11(6), 1023.
- Solaiman, A.R.M.,&Rahbbani, M.G. (2006). Effects of NPKS and cow dung on growth and yield of tomato. *Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University*, 29(1), 31-37.
- Temminghoff, E.E.,& Houba, V.J. (2004). *Plant Analysis Procedures*, 2nd ed.; Temminghoff, E.E., Houba, V.J., Eds.; *Kluwer Academic Publishers*: London, UK.
- Ünal, M., Can, O., Can, B. A., & Poyraz, K. (2018). The effect of bat guano applied to the soil in different forms and doses on some plant nutrient contents. *Communications in soil science and plant analysis*, 49(6), 708-716.
- Van Reeuwijk, L.P. (2002) *Procedures for Soil Analysis*, 6th ed.; Technical Paper 9; ISRIC; FAO: Rome, Italy.
- Zaidi, A., Ahmad, E., Khan, M. S., Saif, S., & Rizvi, A. (2015). Role of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable production of vegetables: Current perspective. *Scientia Horticulturae*, 193, 231-239.



# 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinin soğukta muhafazasında meyve kalite parametrelerindeki değişim üzerine 1-metilsiklopropenin (1-MCP) etkisi

## Impact of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on changes in fruit quality parameters of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya cultivars during cold storage

Esmâ GÜNEŞ<sup>1</sup>  Hatice Reyhan ÖZİYCI<sup>2</sup>  Hamide GÜBBÜK<sup>3\*</sup> 

<sup>1</sup>Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Bilecik, Türkiye

<sup>2</sup>Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, Isparta, Türkiye

<sup>3</sup>Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Antalya, Türkiye

<sup>1</sup><http://orcid.org/0000-0003-1447-8112>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0001-7750-3931>; <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-3199-0660>

### To cite this article:

Güneş, E., Öziyici, H.R. & Gübbük H. (2024). *Impact of 1-methylcyclopropene (1-MCP) on changes in fruit quality parameters of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya cultivars during cold storage*. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4):625-637

DOI: 10.29050/harranziraat.1490508

### \*Address for Correspondence:

Hamide GÜBBÜK

e-mail:

gubbuk@akdeniz.edu.tr

### Received Date:

29.05.2024

### Accepted Date:

12.11.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ÖZ

Klimakterik meyvelerin hasattan sonra hızlı olgunlaşma süreçleri, hasat sonrası kalite yönetimi ve ticari ömrün uzatılması açısından zorluklar oluşturmaktadır. Bu çalışmada, etilen gazının olgunlaşma üzerindeki etkisini geciktiren 1-Metilsiklopropen (1-MCP) kullanımının, subtropikal koşullarda örtüaltında yetiştirilen 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinin soğukta muhafaza sırasında kalite parametreleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu amaçla, farklı dozlarda 1-MCP uygulamasının depolama süresinde meyve ağırlık kaybı, meyve eti sertliği, kabuk renk gelişimi ve kimyasal özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Araştırma bulguları, 'Sel-42' çeşidinde %25 olgunluk seviyesinde 1-MCP uygulamasının muhafaza süresini 28 güne ve 'Tainung' çeşidinde ise 31 güne kadar uzatabildiğini göstermiştir. Ayrıca 1-MCP uygulamalarının, meyve eti sertliğini ve renk dönüşümünü olumlu yönde etkilediği, ancak kimyasal özellikler üzerinde doğrudan bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları, 1-MCP uygulamasının 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinin muhafaza süresini ve meyve kalitesini iyileştirme konusunda önemli bir etkiye sahip olduğunu ve meyveye özgü muhafaza stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağladığı sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Papaya, subtropik, örtüaltı, soğukta muhafaza, meyve kalitesi, 1-MCP

### ABSTRACT

The rapid post-harvest ripening processes of climacteric fruits pose challenges for post-harvest quality management and the extension of commercial shelf life. In this study, the effects of the use of 1-Methylcyclopropene (1-MCP), which delays the effect of ethylene gas on ripening, on the quality parameters of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya varieties grown under greenhouse conditions during cold storage were investigated. For this purpose, the impact of different doses of 1-MCP application on fruit weight loss, flesh firmness, peel color development, and chemical properties was examined during storage. The findings indicate that 1-MCP application at a 25% maturity level could extend the preservation period to 28 days for 'Sel-42' and up to 31 days for 'Tainung'. Furthermore, it was found that 1-MCP treatments positively affected flesh firmness and color transformation, but had no direct effect on chemical properties. The results showed that 1-MCP treatment had a significant effect on increasing storage time and improving the fruit quality of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya cultivars and contributed to the development of fruit-specific preservation strategies.

**Key Words:** Papaya, subtropical, greenhouse, cold storage, fruit quality, 1-MCP

## Giriş

Klimakterik meyveler, olgunlaşma süreçleri sırasında etilen gazı üretimiyle karakterize edilir ve bu gaz, meyvenin olgunlaşmasını hızlandırır (Sezer ve Ayhan, 2017). Bu hızlı olgunlaşma, hasat sonrası meyve kalitesinin korunması ve ticari ömrünün uzatılması açısından önemli kayıplar oluşturur (Strano ve ark., 2022). Bu bağlamda, etilenin olgunlaşma üzerindeki etkisini geciktirmek veya engellemek için bitki büyüme düzenleyicileri kullanılmaktadır. Bu düzenleyiciler arasında, etilen reseptörlerini bloke ederek meyvenin olgunlaşma sürecini yavaşlatan 1-Metilsiklopropan (1-MCP) öne çıkmaktadır (Zhang ve ark., 2020, Srividhya ve ark., 2023).

Son yıllarda yapılan araştırmalar, 1-MCP'nin papaya gibi klimakterik meyvelerin raf ömrünü uzatma ve kalite kayıplarını azaltma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Lee ve ark., 2019, Tomala ve Smith, 2020, Zhang ve ark., 2020, Satekge ve Magwaza, 2022). Nitekim, Ding ve Bee (2008) 'Eksotika' papaya çeşidinde 1-MCP (30 µL L<sup>-1</sup>) uygulaması ile meyvelerin yeşil rengini 9 gün boyunca koruduğunu ve hastalık belirtilerinin geciktiğini bildirmişlerdir. Ali ve Mamat (2010), %5 olgunluk seviyesindeki 'Eksotika' meyveleri 1-MCP (90 ppb) ile muamele edildiğinde meyve olgunlaşmasının geciktiğini ve kalitesinin korunduğunu rapor etmişlerdir. Ahmad ve ark. (2013) ise 'Sekaki' çeşidinde 1-MCP'nin (90 ppb) meyve sertliğini koruyarak yumuşama sürecini yavaşlattığını ve böylece de olgunlaşmayı geciktirdiğini ifade etmişlerdir. Lartey ve Appiah (2023) 'Solo' papaya çeşidinde uygulanan farklı 1-MCP konsantrasyonlarının ve depolama koşullarının meyve fiziksel özellikleri ve tüketici kabulü üzerindeki etkilerini incelemişler ve 1.5 ppm düzeyinde uygulanan 1-MCP'nin meyvelerin raf ömrünü oda sıcaklığında 2 gün, soğuk depolama koşullarında ise 3 gün uzattığını saptamışlardır. Shu ve ark. (2023) çalışmalarında, nem tetiklemeli kontrollü salınım uygulaması ile 1-MCP'nin (1-2 ppm) papaya meyvesinin hasat sonrası kalitesi üzerinde olumlu etkilerinin

olduğunu ve meyve lezzetini artırdığını ifade etmişlerdir. Manenoi ve ark. (2007) ise 'Eksotika' papaya meyvelerine 50-1000 nL L<sup>-1</sup> arasında değişen konsantrasyonlarda 1-MCP uygulayarak, meyvelerin sertliğini koruduğunu ve olgunlaşmayı yaklaşık 7 gün geciktirdiğini kaydetmişlerdir.

Subtropik koşullarda, örtüaltında papaya meyvelerinin soğukta muhafazası üzerine 1-MCP'nin etkileri konusunda yapılmış bir araştırma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, Sel-42' ve 'Tainung' papaya meyvelerinin hasat sonrası meyve kalitesi üzerine 1-MCP uygulamasının etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### *Meyve yetiştirme koşulları ve 1-MCP uygulaması*

Araştırma Akdeniz Üniversitesi Tohumculuk Araştırma ve Geliştirme Merkezi'nde deniz seviyesinden 38 m yükseklikte, 36° 54' 028" kuzey enlem ve 30° 38' 810" doğu boylamında kurulmuş 1000 m<sup>2</sup>'lik plastik bir serada yürütülmüştür. Sera, tepe yüksekliği 6 m yan ve tepe havalandırması olan üç tünelden oluşmuştur. Çalışmada, subtropik iklim koşullarına iyi uyum sağlayan 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerine ait hibrit tohumlardan elde edilen 4 aylık fidanlar kullanılmıştır. Fidanlar, sıra üzeri 1.8 m ve sıra arası 2.5 m mesafe ile Mart 2009 tarihinde seraya dikilmiştir. Serada sulama yöntemi olarak, her bir bitki sırasına iki yanlı damlatıcı hatların konumlandırıldığı damla sulama tekniği tercih edilmiştir. Saatte 2 L su verme kapasitesine sahip bu damlatıcılar, 20 cm ara ile yerleştirilmiştir. Ayrıca, seranın merkezi bölgesindeki nem seviyesini artırmak için hem alttan hem de üstten su püskürtebilen bir yağmurlama sistemi kurulmuştur.

Yetiştirme dönemi boyunca ortalama sıcaklık değerleri 15-31 °C, oransal nem değerleri ise %48-76 arasında değişkenlik göstermiştir. Gübreleme programı, toprak analiz sonuçlarına ve bitkinin gelişim durumuna göre belirlenmiş olup bitki başına vejetasyon süresince toplamda yaklaşık

350 g saf azot (N), 225 g saf fosfat (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), 550 g saf potasyum oksit (K<sub>2</sub>O), 25 g saf magnezyum oksit (MgO) ve 5 g saf kalsiyum oksit (CaO) uygulanmıştır.

Muhafaza çalışmalarında, temmuz ayında (en yoğun hasadın yapıldığı zaman) hasat edilen meyveler kullanılmıştır. Papayada hasat olgunluk seviyesi genel olarak kabuk rengine göre görsel olarak değerlendirilmekte ve renginden yeşil rengin dönüşüm oranı olarak tanımlanmaktadır (Bron ve Jocomino, 2006a; Santamaría Basulto, 2009). Buna göre araştırmada, meyvelerin olgunluk seviyesi yeşil rengin %25, %50 ve %75 oranlarında dönüşümü dikkate alınarak hasat edilmiş ve meyveler bu olgunluk seviyelerinde doğrudan depoya getirilmiştir. 1-MCP uygulaması 24 saat boyunca 10±0.5 °C sıcaklık ve %85-90 oransal nemde gerçekleştirilmiştir. Uygulama dozları Ali ve Mamat'ın (2010) çalışmasında uygulanan dozlar göz önünde bulundurularak 50 ve 200 ppm konsantrasyonları olarak seçilmiştir. Daha sonra meyveler kontrol grubu ile birlikte 1-MCP uygulama koşullarında depolanmıştır. Meyve kabuk rengi, ticari satış açısından en uygun dönem olan yeşil rengin %90 oranında kaybolduğu aşamada muhafazaya son verilmiş ve bu süre sonunda meyvelerde fiziksel ve kimyasal analizler yapılmıştır.

## Metot

### Muhafaza süresi

Meyvelerin kabuk pigmentasyonunda yaklaşık %90 oranında yeşil rengin kaybolduğu gözlemlendiğinde muhafazaya son verilmiş ve bu aşamada meyvelerin maksimum depolama süresi gün olarak kaydedilmiştir.

### Ağırlık kaybı

Muhafaza süresi boyunca, meyvelerde ağırlık kaybındaki değişimler, önceden etiketlenmiş meyvelerde 3 gün aralıklarla hassas terazide tartılarak belirlenmiştir. Bu amaçla ağırlık kaybı, alınan tartımların farkı başlangıç ağırlığına bölünerek elde edilen değer 100 ile çarpılarak % olarak hesaplanmıştır (Golding ve ark., 2020).

### Meyve eti sertliği

Örneklerin meyve eti sertliği değerlerinin belirlenmesi amacıyla papaya meyvelerinin ekvatorial bölgelerinden karşılıklı olacak şekilde kabukları soyulmuş, daha sonra açığa çıkan meyve eti kısımlarında üç farklı yüzeyden bir el tipi Effegi penetrometresi (Facchini, Alfonsine, İtalya) ile 7.9 mm uç ile ölçüm yapılarak elde edilen değerler Newton (N) cm<sup>-2-1</sup> cinsinden ifade edilmiştir (Golding ve ark., 2020).

### Kabuk rengi

Meyvelerin kabuk rengindeki değişim 30 günlük bir periyotta gözlenmiştir. Bu amaçla üçer gün ara ile a\* ve b\* değerleri ölçülerek aşağıdaki formüllerin yardımıyla renk yoğunluğu (Chroma; C\*) ve renk tonu açısı (Hue açısı; h°) değerleri (0°: Kırmızı-mor, 90°: Sarı, 180°: Mavimsi yeşil, 270°: Mavi) aşağıdaki formüllere göre hesaplanmıştır (Barragán-Iglesias ve ark., 2018);

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5}$$

$$h^{\circ} = \arctan (b^* a^{*-1})$$

### Suda çözünür toplam kuru madde ve titre edilebilir asitlik

Meyvelerin suda çözünür toplam kuru madde (SÇKM) ve titre edilebilir asitlik (TA) değerlerinin belirlenmesi amacıyla, katı meyve sıkacağı kullanılarak elde edilen meyve suları kullanılmıştır. SÇKM değerleri, el refraktometresi ile ölçülmüştür. TA değerleri ise saf su ile 1:20 oranında seyreltilmiş meyve suyu örneklerinin, 0.1 N NaOH çözeltisi ile pH 8.1 değerine ulaşana dek titrasyonu yapılarak ve harcanan NaOH çözeltisinin miktarı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır (Cemeroğlu ve ark., 2007);

$$TA \text{ (g sitrik asit } 100 \text{ mL}^{-1}) = V * N * E * 1000 \text{ M}^{-1}$$

V: Titrasyonda harcanan çözelti miktarı (mL)

N: Çözeltinin normalitesi

E: Örnekte hâkim olan organik asidin eşdeğer ağırlığı (mEq)

M: Titrasyon için alınan örnek miktarı (mL)



### L-askorbik asit (C vitamini) miktarı

Örneklerin L-askorbik asit konsantrasyonlarının tespiti amacıyla, 60 g ağırlığında meyve numunesine,  $10^{-6}$  M EDTA ve  $10^{-7}$  M dietilditiyokarbamik asit bulunan %6 (w/v) oranında  $HPO_3$  eklenmiş ve bu işlem sonucunda 250 ml hacminde bir çözelti hazırlanmıştır. Bu çözelti, 24000 rpm'de ultratorrax cihazı kullanılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra, numune 3000 rpm'de 20 dk boyunca santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve Whatman No. 42 filtre kağıdı ile süzümüştür. Süzülen sıvı, 0.45 µm gözenek genişliğine sahip bir membran filtre yardımıyla filtrelendikten sonra analize hazır hale getirilen numuneler, Shimadzu LC-20 AD model Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografi (HPLC) cihazında Fotodiyot Array Dedektörü (DAD-M20 A) kullanılarak incelenmiştir. Kromatografik incelemede, Nucleosil 5 C18 (250x4.6 mm I.D.) kolonu (Kolon sıcaklığı: 25 °C) ve akış hızı dakikada

0.9 mL olarak ayarlanmıştır. Analiz sırasında, %1.5 (w/v) oranında  $NH_4H_2PO_4$  çözeltisi hareketli faz olarak kullanılmış olup enjeksiyon miktarı 20 µL, dedektör dalga boyu ise 264 nm olarak ayarlanmıştır (Karhan ve ark., 2004).

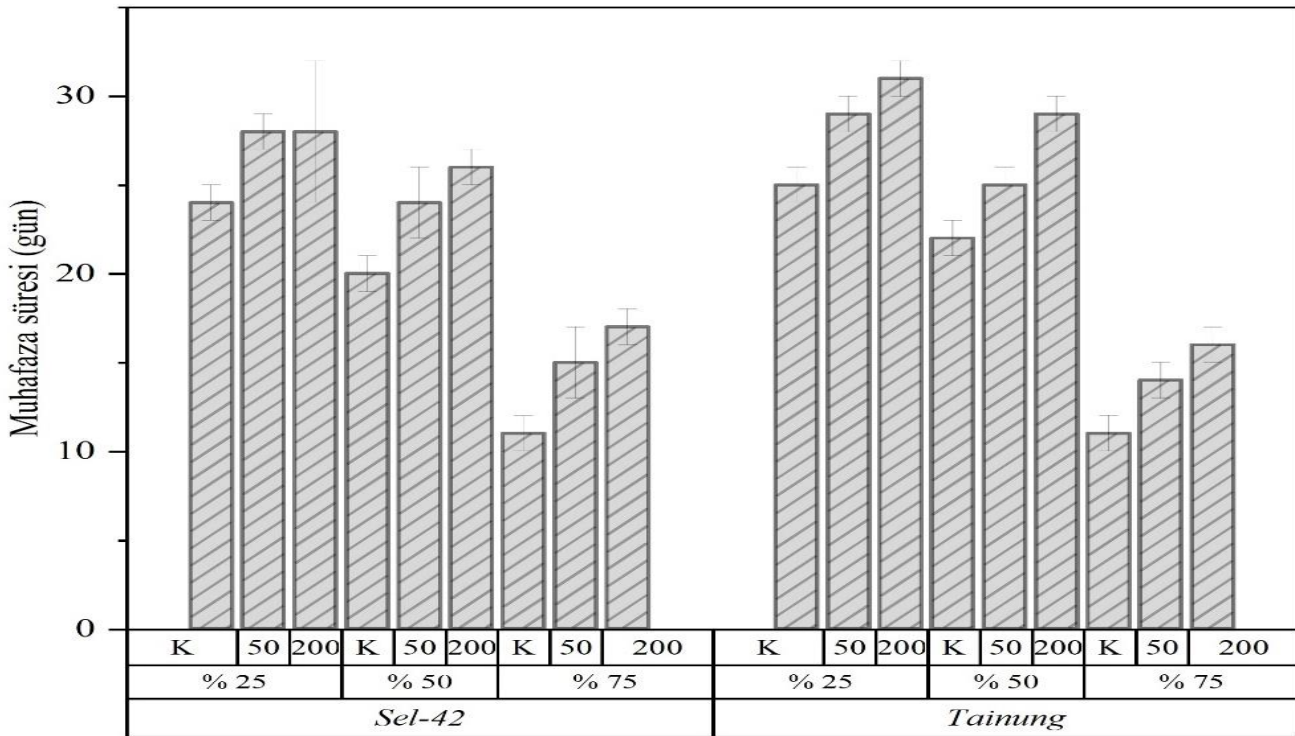
### İstatistik analizler

Araştırma, tesadüf parselleri deneme desenine göre, 3 tekerrürlü ve her tekerrürde 5 meyve olacak şekilde planlanmıştır. Elde edilen bulgulara ANOVA varyans analizi uygulanmış ve ortalamaların karşılaştırılmasında %5 önem düzeyinde ardından Tukey testi uygulanmıştır (Minitab Statistical Software, Version: 19.2020.1).

### Araştırma Bulguları ve Tartışma

#### Papaya çeşitlerinin muhafaza süresi

Çalışma kapsamında farklı dozlarda 1-MCP uygulamalarının meyvelerin muhafaza süreleri üzerine etkisi Şekil 1 'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Farklı olgunluk döneminde hasat edilen 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde 1-MCP uygulanmış meyvelerinin muhafaza süreleri (K: Kontrol, 50: 50 ppb 1-MCP uygulanmış, 200: 200 ppb 1-MCP uygulanmış; % Değerler: Meyve olgunluk düzeyi)

Figure 1. Storage periods of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya cultivars harvested at different maturity stages treated with 1-MCP (K: Control, 50: 50 ppb 1-MCP treated, 200: 200 ppb 1-MCP treated; % Values: Fruit maturity level)

'Sel-42' papaya çeşidinde, %25 olgunluk seviyesinde kontrol grubu meyvelerinde en uzun muhafaza süresi 25 gün olarak saptanırken, bu olgunluk seviyesindeki meyvelere 50 ppb ve 200

ppb dozlarında 1-MCP uygulandığında, muhafaza süresinin yaklaşık 28 güne (50 ppb için ortalama: 28.33 gün, 200 ppb için ortalama: 27.83 gün) uzadığı belirlenmiştir ( $P \leq 0.05$ ). 'Tainung' çeşidinde

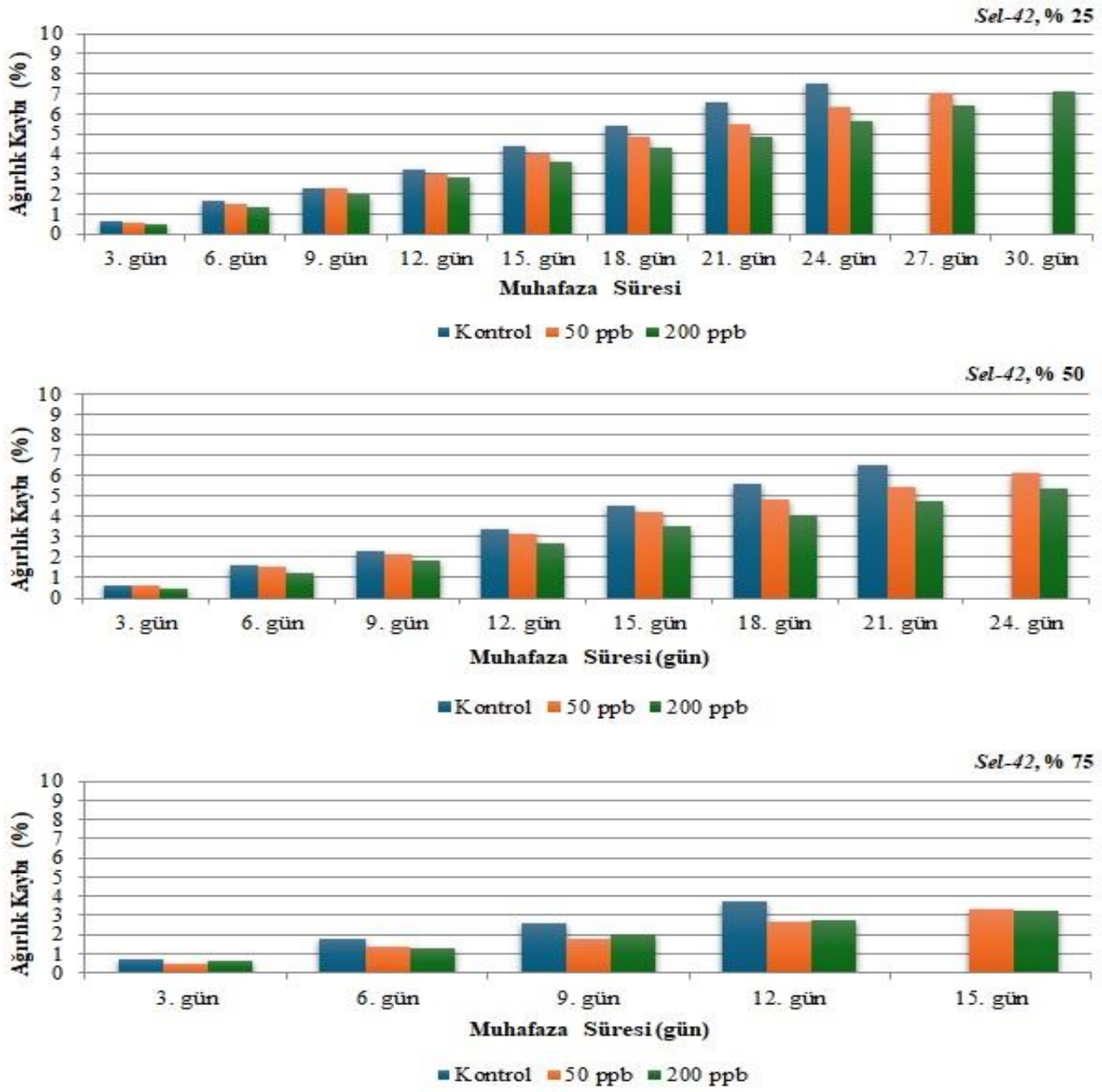
ise %25 olgunluk seviyesinde 1-MCP uygulanmayan kontrol grubunda maksimum 25 gün olan muhafaza süresi, 200 ppb düzeyinde 1-MCP uygulanan aynı olgunluk seviyesindeki meyvelerde 31 güne ulaşmıştır ( $P<0.05$ ). Genel olarak, %25 olgunluk seviyesinde hasat edilen meyvelerde, 1-MCP'nin artan dozları meyvelerin muhafaza süresini uzatmıştır. Bununla birlikte 'Tainung' çeşidinin %25 ve %50 olgunluk seviyelerinde özellikle 200 ppb düzeyinde 1-MCP uygulamasının meyvelerin muhafaza süresini arttırdığı belirlenmiştir (Şekil 1). Ancak her iki çeşit için de olgunluk seviyesinin artması ile muhafaza süresi arasında istatistiksel olarak bir farklılık tespit edilememiştir ( $P\geq 0.05$ ). Bununla birlikte, tüm olgunluk seviyelerinde 1-MCP uygulamaları meyvelerin muhafaza sürelerini kontrol grubuna (K) göre önemli ölçüde uzattığı kaydedilmiştir ( $P<0.05$ ). Muhafaza süresi üzerine çeşit, 1-MCP uygulamaları ve meyve olgunluk seviyesi gibi değişkenlerin belirgin bir etkisi olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Bu bulgular, 1-MCP'nin farklı dozlarının ve uygulama zamanlarının, papaya meyvelerinin muhafaza süresi ve olgunlaşma süreci üzerinde önemli etkileri olduğunu göstermiştir.

1-MCP üzerine yapılan çalışmalarda, 1-MCP'nin meyvelerde tam olgunluk düzeyine ulaşma

süresini geciktirebileceğini göstermektedir. Nitekim Ali ve Mamat (2010) da yaptıkları çalışmada %25 olgunluk düzeyindeki 'Eksotika' papaya çeşidinde, meyvelerin tam sarı renge ulaştıktan sonra maksimum 4 gün muhafaza edildiğini, 90 ppb düzeyinde 1-MCP uygulamasında ise bu sürenin 8 güne kadar uzayabildiğini bildirmişlerdir. Yine aynı meyve çeşidinde yapılan başka bir çalışma da 1-MCP uygulamasının meyve daha yeşilken uygulandığında bile meyvenin olgunlaşmasını geciktirerek 9 güne kadar yeşil halde kalmasının mümkün olduğunu göstermiştir (Ding ve Bee, 2008). Literatür çalışmaları ve bu araştırmanın bulguları birlikte değerlendirildiğinde, 1-MCP'nin papaya meyvelerinin muhafaza süresi ve olgunlaşma süreci üzerindeki etkilerinin, meyve çeşidi ve olgunluk seviyesine bağlı olarak değişkenlik gösterdiği ve bu etkilerin meyve kalitesinin korunması açısından kritik öneme sahip olduğu düşünülmektedir.

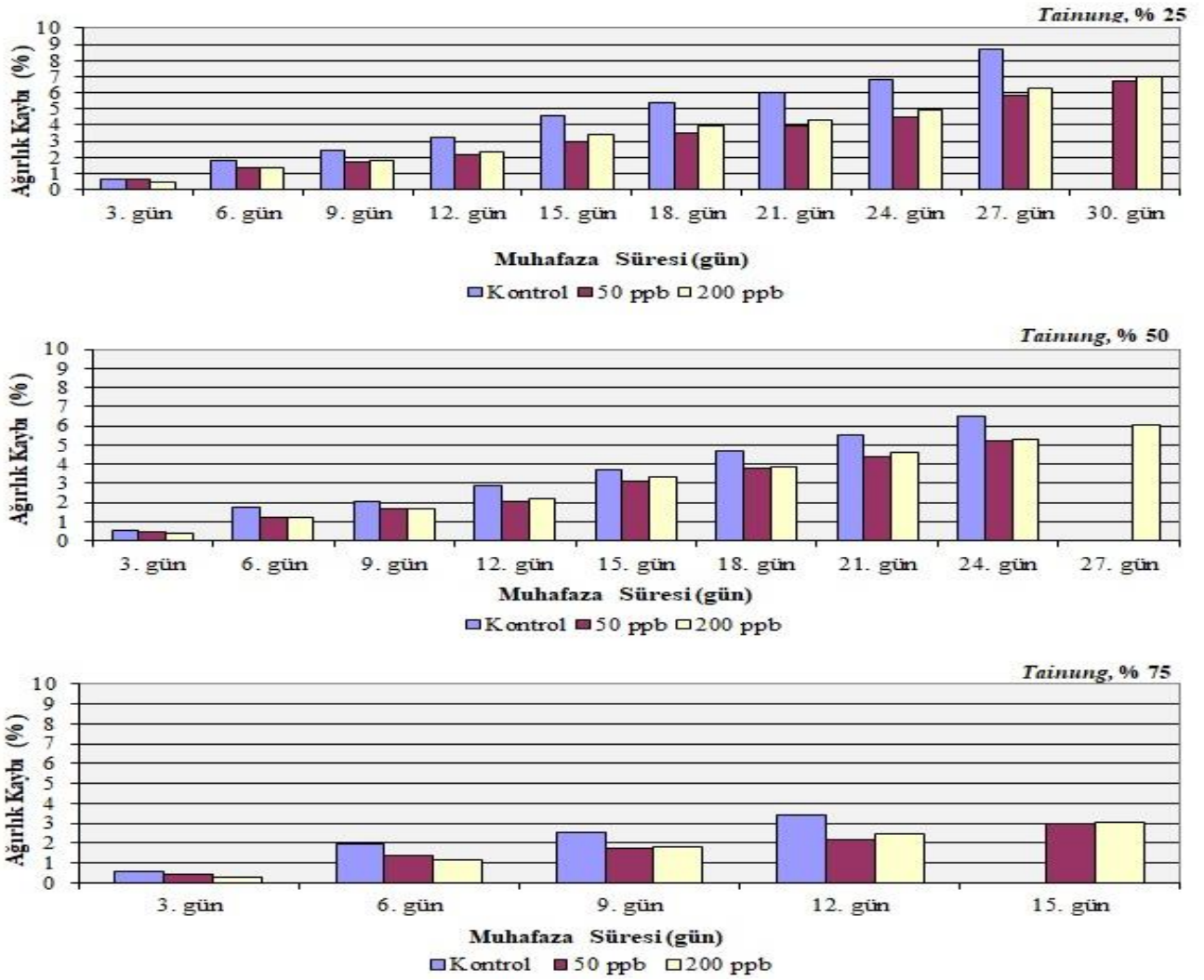
#### *Papaya çeşitlerinde muhafaza sürecinde ağırlık kayıpları*

'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde, muhafaza süresi boyunca farklı olgunluk seviyelerinde meyve ağırlık kaybı ölçümlerindeki değişimler Şekil 2 ve 3'te gösterilmiştir.



Şekil 2. 'Sel-42' papaya çeşidinde farklı olgunluk seviyelerindeki meyvelerde uygulamalara göre depolama süresince ağırlık kaybındaki değişimler

Figure 2: Changes in weight loss during storage in fruits at different maturity levels in the 'Sel-42' papaya cultivar according to the applications



Şekil 3. 'Tainung' papaya çeşidinde farklı olgunluk seviyelerinde m meyvelerde uygulamalara göre depolama süresince ağırlık kaybındaki değişimler

Figure 3. Changes in weight loss during storage in 'Tainung' papaya cultivar at different maturity levels in fruits according to applications

Araştırma bulgularına göre; 1-MCP'nin uygulamasının kullanılan dozlardan bağımsız olarak, meyve ağırlık kaybını azalttığı (kontrol grubuna kıyasla) ve muhafaza süresi boyunca olgunluk seviyesindeki değişimi yavaşlattığı gözlemlenmiştir. Olgunluk seviyelerine göre yapılan karşılaştırmada, 'Tainung' çeşidi, %25 olgunluk seviyesinde 24. günde %6.83, %50 olgunluk seviyesinde 21. günde %5.54 ve %75 olgunluk seviyesinde 12. günde %3.39 ağırlık kaybı ile 'Sel-42' çeşidine göre daha düşük ağırlık kaybı sergilemiştir. Buna karşın, 'Sel-42' çeşidinde ise %25 olgunluk seviyesinde 24. günde %7.48, %50 olgunluk seviyesinde 21. günde %6.49 ve %75 olgunluk seviyesinde 12. günde %3.74 ağırlık kaybı gözlenmiştir (Şekil 2 ve 3). Meyve ağırlık kaybının önlenmesi açısından, 50 ppb ve 200 ppb konsantrasyonlarında uygulanan 1-MCP uygulamaları arasında ise istatistiksel bir farklılık

saptanmamıştır ( $P>0.05$ ).

Literatürdeki karşılaştırmalı çalışmalar, 1-MCP'nin etkinliğinin çeşitli faktörlere bağlı olduğunu göstermektedir. Shu ve ark. (2023), 1.0 ppm 1-MCP uygulanan ve 10 °C'de depolanan 'Rainbow' papaya meyvelerinin, kontrol grubuna göre ağırlık kaybının yarı yarıya azaltıldığını bildirmişlerdir. Ancak Manenoi ve ark. (2007) tarafından yapılan bir başka çalışmada, 100 nl L-1 1-MCP ile muamele edilen papayaların ağırlık kaybında, kontrol grubuna kıyasla önemli bir düşüş olmadığı rapor edilmiştir. Lartey ve Appiah (2023) ise, farklı 1-MCP dozlarının ('Solo' papaya çeşidinde 0.5-1.5 ppm) ağırlık kaybını önlemede etkili olmadığını, ancak daha soğuk ortamda (17 °C) depolanan meyvelerin, ortam sıcaklığında (26 °C) depolanana göre daha düşük düzeyde ağırlık kaybı gösterdiğini vurgulamışlardır. Bu

çalışmaların ışığında, kullanılan konsantrasyonlardan bağımsız olarak 1-MCP'nin meyve ağırlık kaybını azaltmada etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Ancak, bu etkinin çeşitli çevresel faktörler ve meyve çeşitleriyle değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Papaya çeşitlerinde muhafaza süresince meyve eti sertlik değerleri

'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde, farklı olgunluk seviyesinde hasat edilen meyvelerde farklı 1-MCP dozlarının meyve eti sertliği üzerine etkileri Çizelge 1'de verilmiştir. 'Sel-42' çeşidinde, %75 olgunluk seviyesinde 50 ppb

konsantrasyonunda 1-MCP uygulanan örneklerde meyve eti sertliği en yüksek değere, yani 39.52 N cm<sup>2</sup>-1'ye ulaşmıştır. 'Tainung' çeşidinde ise, %25 olgunluk seviyesinde 200 ppb konsantrasyonunda 1-MCP uygulanan meyvelerde meyve eti sertliği 38.54 N cm<sup>2</sup>-1 olarak saptanmış, bu değer diğer örneklerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermemiştir (P>0.05). Ayrıca her iki çeşitte de 1-MCP uygulamaları ve olgunluk seviyelerine bağlı olarak beklenildiği gibi depolama sonunda (%90 yeşil rengin kaybolduğu seviyede) meyve eti sertliğinin genel olarak daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1. Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde, farklı olgunluk seviyesinde hasat edilen meyvelerde farklı 1-MCP dozlarının meyve eti sertliği üzerine etkileri

Table 1. Effects of different 1-MCP doses on the fruit flesh firmness of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya cultivars harvested at different maturity levels

1-MCP Dozları 1-MCP doses	Çeşitler Cultivars	Olgunluk seviyesi Maturity level	Meyve eti sertliği (N cm <sup>2</sup> -1) Fruit Flesh firmness (N cm <sup>2</sup> -1)
Kontrol	'Sel-42'	% 25	24.57 ±1.60 <sup>f</sup>
		% 50	28.78±1.17 <sup>de</sup>
		% 75	28.54±1.63 <sup>de</sup>
	'Tainung'	% 25	30.25±1.53 <sup>cd</sup>
		% 50	27.98±3.63 <sup>de</sup>
		% 75	32.77±5.04 <sup>bcd</sup>
50 ppb	'Sel-42'	% 25	30.68±0.93 <sup>cd</sup>
		% 50	32.79±2.34 <sup>a-d</sup>
		% 75	39.52±1.29 <sup>a</sup>
	'Tainung'	% 25	31.04±2.45 <sup>cd</sup>
		% 50	28.70±0.71 <sup>de</sup>
		% 75	33.13±5.09 <sup>a-d</sup>
200 ppb	'Sel-42'	% 25	32.75±0.575 <sup>a-d</sup>
		% 50	30.19±1.69 <sup>cd</sup>
		% 75	32.62±2.3030 <sup>a-d</sup>
	'Tainung'	% 25	38.51±4.00 <sup>ab</sup>
		% 50	36.25±2.52 <sup>abc</sup>
		% 75	35.43±5.72 <sup>abc</sup>

Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05)

1-MCP, meyve olgunlaşma aşamalarına göre farklı etkiler göstermekte ve meyve kalitesinin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Nitekim Bron ve ark. (2006b) tarafından yapılan bir çalışmada, 'Golden' papaya meyvelerinin olgunluk aşamasına göre 1-MCP uygulamasının etkisinin tüketim ve ticarileşme durumları ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmiştir. Tüketim için kabul

edilebilir meyve eti sertlik değeri olarak 20 N değeri belirlenmiş ve bu değerden düşük meyve eti sertlik değerleri tüketim koşulu, yüksek değerler ise ticarileşme değeri olarak tanımlanmıştır. Özellikle %50 olgunluk aşamasında hasat edilen meyvelerde 1-MCP uygulaması sadece ticari olarak pazarlanabilme süresini artırmakla kalmamış, aynı zamanda

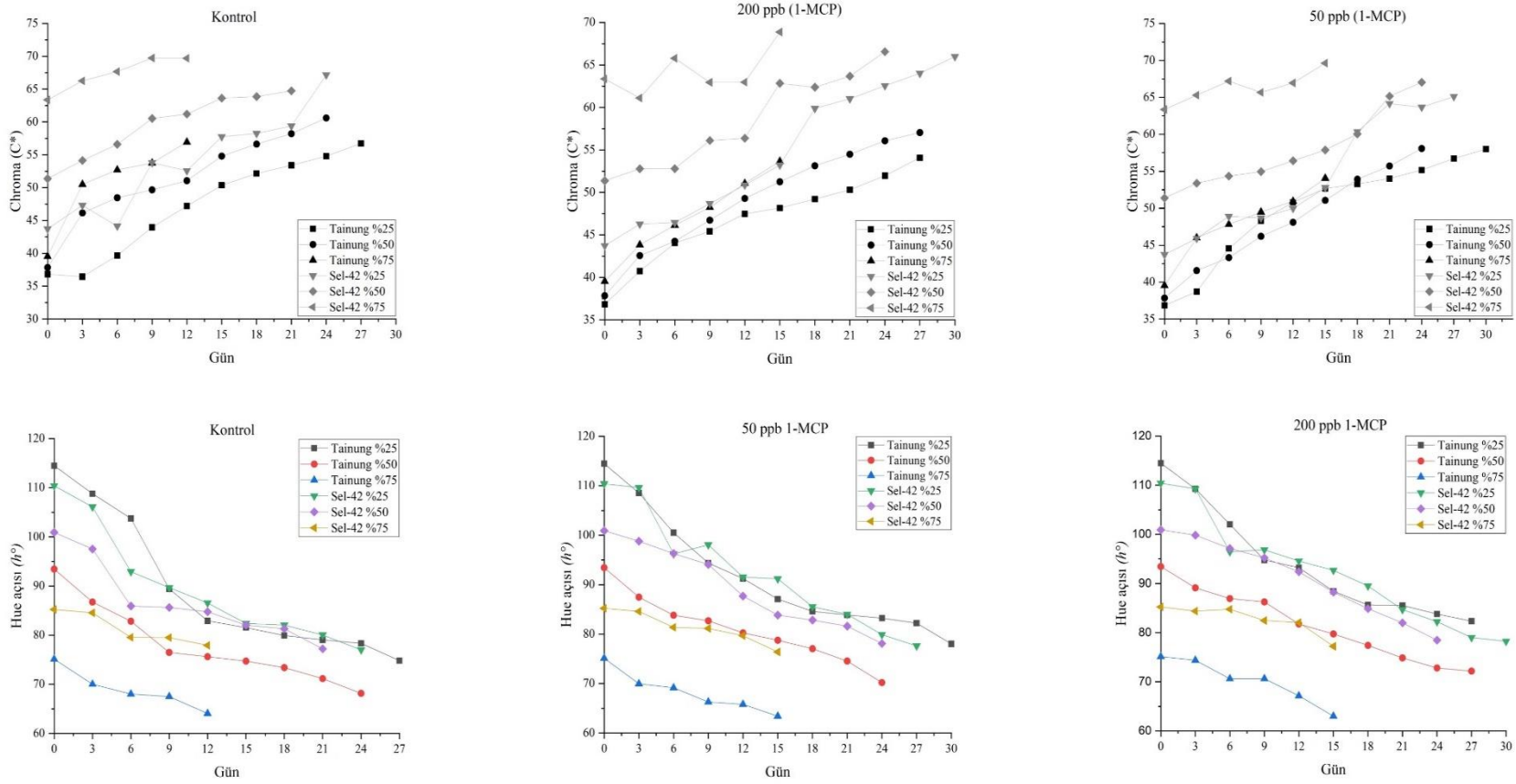
meyvelerin tüketim koşulunda kaldığı süreyi de uzatmıştır. Bununla birlikte %75 olgunluk seviyesinde hasat edilen ve 1-MCP ile muamele edilen meyvelerin ise ticari satış süresini etkilemediği, ancak daha uzun süre tüketim süresine sahip oldukları görülmüştür. Manenoi ve ark. (2007) da %10 olgunluk aşamasındaki Gold' ve 'Rainbow' papaya meyveleri üzerine 1-MCP uygulamasının daha etkili olduğunu ve 1-MCP ile muamele edilen meyvelerin (84.3 N), muamele edilmemiş meyvelere (15.7 N) göre daha sert olduğunu bildirmişlerdir. Literatür sonuçları ile kıyaslandığında, bu araştırmadan elde edilen bulgularda da 1-MCP uygulamasının meyve eti sertliği üzerine etki düzeyinin meyvenin olgunluk seviyesine ve 1-MCP dozuna bağlı olduğu, bu durumun ise tüketim kalitesi ve ticari değer açısından önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

#### *Papaya çeşitlerinde muhafaza süresince meyve kabuk rengi değişimleri*

'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinin farklı olgunluk seviyelerindeki renk yoğunluğu ( $C^*$ ) ve renk tonu açısı ( $h^\circ$ ) parametrelerindeki değişimler incelenmiştir. Olgun papaya meyvelerinin karakteristik sarı rengini yansıtan yüksek ( $C^*$ ) değerleri ve  $90^\circ$ 'ye yakın ( $h^\circ$ ) değerleri, bu analizdeki değerlendirmeler için esas alınmıştır. Araştırma sonuçları, 1-MCP uygulamasının, uygulama dozuna bağlı olarak, her iki papaya çeşidinde de kontrol grubuna göre sarı renk yoğunluğunda ( $C^*$ ) daha yavaş bir artış sağladığını, renk tonu açısından ise özellikle %25

ve %50 olgunluk seviyelerinde 1-MCP dozunun artmasıyla sarı rengi ifade eden  $90^\circ$ 'lik Hue açısına ulaşılma süresinin uzadığını göstermiştir. Özellikle 200 ppb 1-MCP dozunun, hem 'Sel-42' hem de 'Tainung' çeşitlerinde renk değişimini en fazla yavaşlattığı gözlemlenmiştir. Ayrıca her iki renk parametresi üzerine çeşit, olgunluk seviyesi ve depolama süresinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Bununla birlikte, Hue açısı değerleri açısından, özellikle kontrol grubunda çeşitler arasında belirgin bir farklılık gözlenmemiştir ( $P>0.05$ ). Ancak 'Sel-42' çeşidinde, kabukta sarı renk gelişiminin 'Tainung' çeşidine kıyasla daha uzun sürdüğü gözlemlenmiştir (Şekil 4).

Bu bulgular, Ding ve Bee (2008) tarafından 'Eksotika' papaya çeşidinde yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Nitekim bu araştırmacılar 1-MCP uygulanan (özellikle 30  $\mu$ L L-1 konsantrasyonunda) meyvelerin 9. güne kadar yeşil rengini koruduğunu ve sonrasında renk doygunluğunda kademeli bir artış, renk tonunda ise bir azalış gösterdiklerini bildirmişlerdir. Ahmad ve ark. (2013) 'Sekaki' papaya çeşidi üzerinde yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar ortaya koymuşlar, 1-MCP uygulanan meyvelerin tam sarı renge ulaşma süresinin kontrol grubuna göre daha uzun olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmaların ışığında, 1-MCP'nin papaya meyvelerinin renk gelişimini etkileyerek, olgunlaşma sürecini dengelediği ve bu etkinin çeşitli faktörlerle etkileşim içinde olduğu sonucuna varılabilir.



Şekil 4. Farklı olgunluk seviyelerinde hasat edilen 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde 1-MCP uygulamasının muhafaza süresinde meyve renk özellikleri üzerine etkileri (% Değerler: Meyve olgunluk düzeyi)

Figure 4. Effects of 1-MCP application on fruit color characteristics during the storage period of 'Sel-42' and 'Tainung' papaya varieties harvested at different maturity levels (% Values: Fruit maturity level)

*Papaya çeşitlerinde muhafaza süresinde bazı kimyasal özelliklerdeki değişimler*

Farklı olgunluk seviyesinde hasat edilen Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde 1-MCP uygulamalarının meyvelerin suda çözünür toplam kuru madde (SÇKM) miktarı, titre edilebilir asitlik (TA) değeri ve C vitamini içerikleri üzerine etkileri Çizelge 2 verilmiştir. Sel-42' çeşidinde SÇKM değerleri, %11.07 ile %12.38 aralığında değişkenlik gösterirken, 'Tainung' çeşidinin daha düşük SÇKM değerleri (%9.17 ile %11.70) sergilediği gözlemlenmiştir. Asitlik (TA) değerleri incelendiğinde, her iki çeşide ait meyve örneklerinde asitliğin 0.14 ile 0.26 g 100 mL-1 aralığında olduğu tespit edilmiştir. 1-MCP

uygulamasının varlığı veya yokluğundan bağımsız olarak, her iki çeşitte de %50 olgunluk seviyesindeki örneklerinin asitlik düzeylerinin, %75 olgunluk seviyesindeki örneklerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. C vitamini içeriği açısından, çeşitlerin bu parametre üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığı (P>0.05) saptanmıştır. Bununla birlikte, 50 ppb 1-MCP uygulamasında, %25 olgunluk seviyesindeki 'Sel-42' çeşidinde 73.43 mg 100 g-1 ile en yüksek C vitamini içeriğinin saptandığı, buna karşın, 'Tainung' çeşidinin aynı koşullar altında 55.51 mg 100 g-1 ile en düşük değere sahip olduğu kaydedilmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2. Farklı olgunluk seviyesinde hasat edilen 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinde 1-MCP uygulamasının muhafaza sonunda meyvelerin bazı kimyasal özellikler üzerine etkileri

Table 2. Effects of 1-MCP application on some chemical properties of fruits at the end of storage in 'Sel-42' and 'Tainung' papaya cultivars harvested at different maturity levels

1-MCP dozları 1-MCP doses	Çeşitler Cultivars	Olgunluk seviyesi Maturity level	SÇKM (%) Soluble solids (%)	TA (g sitrik asit 100 ml <sup>-1</sup> ) Titratable acidity (g citric acid 100 ml <sup>-1</sup> )	C Vitamini (mg askorbik asit 100 g <sup>-1</sup> ) Vitamin C (mg ascorbic acid 100 g <sup>-1</sup> )
Kontrol	'Sel-42'	% 25	12.20±0.23 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>	63.46±1.44 <sup>d-g</sup>
		% 50	11.80±0.77 <sup>a</sup>	0.17±0.01 <sup>a</sup>	63.82±0.56 <sup>d-g</sup>
		% 75	11.07±0.57 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>	71.30±5.13 <sup>ab</sup>
	'Tainung'	% 25	9.17±0.75 <sup>b</sup>	0.20±0.00 <sup>a</sup>	60.15±0.31 <sup>g</sup>
		% 50	9.50±1.23 <sup>b</sup>	0.15±0.01 <sup>b</sup>	60.79±3.73 <sup>g</sup>
		% 75	9.70±0.75 <sup>b</sup>	0.26±0.02 <sup>a</sup>	64.79±1.12 <sup>cdef</sup>
50 ppb	'Sel-42'	% 25	12.38±0.25 <sup>a</sup>	0.18±0.00 <sup>a</sup>	73.43±7.18 <sup>a</sup>
		% 50	11.85±0.80 <sup>a</sup>	0.17±0.03 <sup>a</sup>	62.14±0.30 <sup>efg</sup>
		% 75	11.55±0.94 <sup>a</sup>	0.20±0.00 <sup>a</sup>	64.27±0.80 <sup>c-g</sup>
	'Tainung'	% 25	9.86±0.57 <sup>b</sup>	0.20±0.02 <sup>a</sup>	55.51±0.95 <sup>h</sup>
		% 50	9.33±0.52 <sup>b</sup>	0.17±0.03 <sup>a</sup>	60.51±1.35 <sup>fg</sup>
		% 75	11.70±0.75 <sup>a</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	65.35±0.95 <sup>b-e</sup>
200 ppb	'Sel-42'	% 25	11.50±0.61 <sup>a</sup>	0.19±0.00 <sup>a</sup>	69.88±0.64 <sup>abc</sup>
		% 50	11.93±0.59 <sup>a</sup>	0.14±0.02 <sup>b</sup>	66.46±2.53 <sup>a-e</sup>
		% 75	11.67±0.84 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>b</sup>	67.51±0.94 <sup>a-d</sup>
	'Tainung'	% 25	9.63±0.50 <sup>b</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>	60.37±1.65 <sup>g</sup>
		% 50	9.83±0.75 <sup>b</sup>	0.16±0.01 <sup>b</sup>	60.77±2.40 <sup>fg</sup>
		% 75	11.00±0.66 <sup>a</sup>	0.25±0.00 <sup>a</sup>	70.00±4.76 <sup>abc</sup>

Aynı sütunda farklı harfler ile gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir (P<0.05)

Araştırma bulguları, 1-MCP uygulamasının meyvelerin kimyasal özelliklerinde herhangi bir değişim meydana getirmediğini göstermiştir. Nitekim Bron ve ark. (2006b) tarafından yapılan çalışmada da 1-MCP'nin 'Golden' papaya

meyvesinde SÇKM, TA ve C vitamini değişimleri açısından herhangi bir etkisinin olmadığı ve sadece meyvenin olgunluk seviyesine bağlı olarak bu parametrelerinde değişim görüldüğü vurgulanmıştır. Ayrıca araştırmacılar meyvenin



çok az miktarda içerdiği nişasta sebebiyle olgunluk sürecinde SÇKM değerlerinde az bir değişim meydana geldiğini ifade etmişlerdir. Bununla birlikte meyve olgunlaştıkça C vitamini içeriğinde artış olduğu, ancak bu artışa 1-MCP'nin herhangi bir etkisi olmadığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak, meyvenin olgunlaşma sürecindeki bu parametrelerdeki değişimlerin, 1-MCP uygulamasından ziyade, çeşitlerin kendine has biyokimyasal özellikleri tarafından daha fazla etkilendiği söylenebilir.

## Sonuçlar

Bu araştırma, 1-Metilsiklopropenin (1-MCP) farklı olgunluk seviyesinde hasat edilen 'Sel-42' ve 'Tainung' papaya çeşitlerinin hasat sonrası meyve kalite özelliklerine olan etkisini ortaya koymuştur. 1-MCP'nin, her iki papaya çeşidinde de kontrol örneğine göre muhafaza süresi, ağırlık kaybı ve meyve eti sertliğini olumlu yönde etkileyerek, meyvelerin ticari değerini ve tüketim kalitesini iyileştirdiği gözlenmiştir. Buna karşın meyvelerin rengi ve kimyasal özellikleri üzerine 1-MCP'nin uygulama dozundan ziyade, çeşitlerin ve olgunluk seviyesinin etkili olduğu bulunmuştur. Bu bulgular, 1-MCP'nin papaya meyvelerinin raf ömrünü uzatma ve kaliteyi korumada etkili olduğunu göstermektedir. Bu durum, 1-MCP uygulamasının, meyvelerin ticari değerini %25 olgunluk seviyesinde 'Sel-42' çeşidinde kontrole göre 3 gün, 'Tainung' çeşidinde ise aynı olgunluk seviyesinde kontrole göre 5 gün daha uzun süre koruyabildiğini göstermektedir.

## Ekler

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "2009.03.0121.006" kodlu proje ile desteklenmiş olup, Esmâ Güneş'in doktora tezinin bir kısmını kapsamaktadır.

**Çıkar Çatışması:** Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

**Yazar Katkısı:** Bu araştırmanın planlanması ve tasarımı ile bitki yetiştiriciliği, muhafaza ve analiz

çalışmaları Hamide Gübbük'ün gözetiminde Esmâ Güneş tarafından yapılmıştır. Hatice Reyhan Öziyci verilerin istatistiksel değerlendirmesi ve makalenin yazılması aşamalarında görev almış olup, Hamide Gübbük makalenin yazımı ve gözden geçirilmesine katkı sağlamıştır.

## Kaynaklar

- Ali, Z.M. and Mamat, S.M. (2010). Response of papaya ('Eksotika') fruit to different 1-Methylcyclopropene concentrations. *Acta Horticulturae*, 880, 347-352. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.880.41>.
- Ahmad, A., Ali, Z. M., & Zainal, Z. (2013). Effect of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) treatment on firmness and softening related enzymes of 'Sekaki' papaya fruit during ripening at ambient. *Sains Malaysiana*, 42, 903-909.
- Barragán-Iglesias, J., Méndez-Lagunas, L. L., & Rodríguez-Ramírez, J. (2018). Ripeness indexes and physicochemical changes of papaya (*Carica papaya* L. cv. Maradol) during ripening on-tree. *Scientia Horticulturae*, 236, 272-278. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.012>.
- Bron I.U. and Jocomino, A.P. (2006a). Ripening and quality of "Golden" papaya fruit harvested at different maturity stages, *Braz. J. Plant Physiol.* 18(3): 389-396.
- Bron, I. U., Jacomino, A. P., & Pinheiro, A. L. (2006b). Influence of ripening stage on physical and chemical attributes of 'Golden' papaya fruit treated with 1-Methylcyclopropene. *Bragantia*, 65, 553-558. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0006-87052006000400003>.
- Cemeroğlu, B., Yemencioğlu, A. And Özhan, M. 2007. Gıda Analizleri Kitabı, ss. 45-88, Ankara.
- Ding, P., & Bee, N. S. (2008). Effects of 1-methylcyclopropene on the postharvest life of Eksotika papaya. *Journal of Applied Horticulture*, 10(2), 123-128. DOI: <https://doi.org/10.37855/jah.2008.v10i02.26>.
- Golding, J. B., Pristijono, P., & Wang, B. (2020). Effect of Phytosanitary Irradiation Treatment on the Storage Life of 'Jiro' Persimmons at 15° C. *Horticulturae*, 6(92), 2-11. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae6040092>.
- Karhan, M., Aksu, M., Tetik, N., & Turhan, I. (2004). Kinetic modeling of anaerobic thermal degradation of ascorbic acid in rose hip (*Rosa Canina* L) pulp. *Journal of Food Quality*, 27(5), 311-319. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4557.2004.00638.x>.
- Lartey, E. N., & Appiah, F. (2023). Effect of Different Concentrations of 1-MCP and Varied Storage Environments on Physical Characteristics and Consumer Acceptability of Solo Papaya (*Carica Papaya* L.) Fruits. *Asian Journal of Advanced Research and Reports*, 17(8), 41-57. DOI: <https://doi.org/10.9734/AJARR/2023/v17i8503>.
- Lee, H., Choi, G., & Park, J. (2019). Postharvest Application

- of 1-MCP to Improve the Quality and Shelf Life of Climacteric Fruits. *Food Chemistry*, 293, 18-26.
- Manenoi, A., Bayogan, E. R. V., Thumdee, S., & Paull, R. E. (2007). Utility of 1-methylcyclopropene as a papaya postharvest treatment. *Postharvest Biology and Technology*, 44(1), 55-62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.11.005>.
- Santamaría Basulto, F., Sauri Duch, E., Espadas y Gil, F., Díaz Plaza, R., Larqué Saavedra, A., & Santamaría, J. M. (2009). Postharvest ripening and maturity indices for maradol papaya. *Interciencia*, 34(8), 583-588.
- Satekge, T. K., & Magwaza, L. S. (2022). Postharvest application of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on climacteric fruits: Factors affecting efficacy. *International Journal of Fruit Science*, 22(1), 595-607. DOI: <https://doi.org/10.1080/15538362.2022.2085231>.
- Sezer, E., & Ayhan, Z. (2017). Meyve ve sebzelerde etilen tutucu içeren aktif ambalajlama sistemlerinin uygulanması ve raf ömrüne etkisi. *Akademik Gıda*, 15(2), 182-191. DOI: <https://doi.org/10.24323/akademik-gida.333675>.
- Shu, C., Wall, M. M., Follett, P. A., Sugimoto, N., Bai, J., & Sun, X. (2023). Effect of Humidity-Triggered Controlled-Release 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on Postharvest Quality of Papaya Fruit. *Horticulturae*, 9(10), 1062. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9101062>.
- Srividhya, S., Jayakanthan, M. & Jeyakumar, P. (2023). Mechanism unravelling the effect of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) through molecular docking approach and postharvest analysis in papaya. *Plant Physiology Reports*, 28, 448-458. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40502-023-00741-9>.
- Strano, M. C., Altieri, G., Allegra, M., Di Renzo, G. C., Paterna, G., Matera, A., & Genovese, F. (2022). Postharvest technologies of fresh citrus fruit: Advances and recent developments for the loss reduction during handling and storage. *Horticulturae*, 8(7), 612. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae8070612>.
- Tomala, K., & Smith, T. (2020). The Influence of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on 'Szampion' Apple Fruit Quality after Cold Storage. *Journal of Agricultural Science*, 12(4), 45-58. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture10030080>.
- Zhang, J., Ma, Y., Dong, C., Terry, L. A., Watkins, C. B., Yu, Z., & Cheng, Z. M. M. (2020). Meta-analysis of the effects of 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment on climacteric fruit ripening. *Horticulture Research*, 7(208): 2-16. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41438-020-00405-x>.



# Determination of Mardin-Kızıltepe plain groundwater level using geographic information systems and analysis of change between 1985-2019

## Mardin-Kızıltepe ovası yeraltı su seviyesinin coğrafi bilgi sistemleri kullanılarak belirlenmesi ve 1985-2019 yılları arasındaki değişimin analizi

Serkan KILIÇASLAN<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Mardin Tarım ve Orman İl Müdürlüğü, Mardin/TÜRKİYE

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-5595-2338>

### To cite this article:

Kılıçaslan, S. (2024). Determination of Mardin-Kızıltepe plain groundwater level using geographic information systems and analysis of change between 1985-2019. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4): 638-658

DOI: 10.29050/harranziraat.1514375

**\*Address for Correspondence:**  
Serkan KILIÇASLAN  
e-mail:  
serkankilicaslan@hotmail.com

**Received Date:**  
11.07.2024

**Accepted Date:**  
22.10.2024

© Copyright 2018 by Harran University  
Faculty of Agriculture. Available on-line  
at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

65% of groundwater resources are used for agricultural irrigation. This situation has made the management and protection of groundwater very important, especially in terms of the protection of natural resources and sustainable agriculture. For this purpose, in the study carried out in the Mardin-Kızıltepe Plain, which is one of the regions with intensive use, groundwater conditions and how they change over time were examined. The 34-year (1985-2019) drilling data of the region were divided into 7 periods and thematic maps of Static Water Level (SWL), Dynamic Water Level (DWL), Well Depth (WD) and Well Yield (WY) data were created and the change rates were analyzed using the reverse distance interpolation technique. While the proportion of the area classified as SWL shallow and normal in Period-1 was 100%, it decreased to 7.5% in Period-7, while the proportion of deep and very deep class, which was 0% in Period-1, reached 92.5%. While the ratio of shallow and normal class was 100% in DWL Period-1, it decreased to 0.2% in Period-7, and the rate of 0% in deep and very deep class in Period-1 reached 99.8% in Period-7. In terms of WD, while 100% of the well depths drilled in Period-1 were in the shallow and normal class, this rate decreased to 0.3% in Period-7, and the rate in the deep and very deep class reached 99.7%. Using the period-7 data, the exploitable groundwater potential of the region was classified and 3.2% of the area was classified as poor (390,78.4 ha), 44% as normal (130,372.3 ha), 36.2% as good (107,295.1 ha), 6.6% as very good (19,465.2 ha). In terms of 14 reference points, the underground SWL fell between 21-149 m, the DWL between 35-193 m, and borehole irrigation well depths of more than 300 m. It is expected that this study will be an important resource in groundwater management and protection in terms of environmental and natural resources protection and sustainable agriculture and will guide future studies on this subject.

**Key Words:** Groundwater, GIS, Interpolation, IDW

### ÖZ

Yeraltı su kaynaklarının %65'i tarımsal sulama için kullanılmaktadır. Bu durum özellikle doğal kaynakların korunması ve sürdürülebilir tarım açısından yeraltı sularının yönetimi ve korunmasını çok önemli hale getirmiştir. Bu amaçla yoğun kullanımın olduğu bölgelerden biri olan Mardin-Kızıltepe Ovası'nda yapılan çalışmada yeraltı suyu koşulları ve zaman içerisinde nasıl değiştiği incelenmiştir. Bölgenin 34 yıllık (1985-2019) sondaj verileri 7 döneme ayrılarak Statik Su Seviyesi (SSS), Dinamik Su Seviyesi (DSS), Kuyu Derinliği (KD) ve Kuyu Verimi (KV) verilerinin tematik haritaları oluşturulmuş ve uzaklığın tersi ile ağırlıklandırma interpolasyon tekniği kullanılarak değişim oranları analiz edilmiştir. Dönem-1'de SSS sığ ve normal olarak sınıflandırılan

alanın oranı %100 iken Dönem-7'de %7,5'e düşmüş, Dönem-1'de %0 olan derin ve çok derin sınıfının oranı ise %92,5'e ulaşmıştır. DSS Dönem-1'de sığ ve normal sınıfın oranı %100 iken Dönem-7'de %0,2'ye düşmüş, Dönem-1'de derin ve çok derin sınıfta %0 olan oran Dönem-7'de %99,8'e ulaşmıştır. KD açısından ise Dönem-1'de açılan kuyu derinliklerinin %100'ü sığ ve normal sınıfta yer alırken, Dönem-7'de bu oran %0,3'e düşmüş, derin ve çok derin sınıfta yer alanların oranı ise %99,7'ye ulaşmıştır. Dönem-7 verileri kullanılarak bölgenin işletilebilir yeraltı suyu potansiyeli sınıflandırılmış ve alanın %3,2'si zayıf (390.78,4 ha), %44'ü normal (130.372,3 ha), %36,2'si iyi (107.295,1 ha), %6,6'sı çok iyi (19.465,2 ha) olarak sınıflandırılmıştır. 14 referans noktası açısından, yeraltı SSS 21-149 m arasında, DSS 35-193 m arasında düşmüş ve sondaj sulama kuyu derinlikleri 300 m'den fazla olmuştur. Bu çalışmanın çevre ve doğal kaynakların korunması ve sürdürülebilir tarım açısından yeraltı suyu yönetimi ve korunmasında önemli bir kaynak olması ve bu konuda gelecekte yapılacak çalışmalara yol göstermesi beklenmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Yeraltı suyu, CBS, İnterpolasyon, IDW

## Introduction

When gravity pulls water from the surface and fills the spaces left by porous layers (pebbles, sandstones, etc.) or fractured, cracked rocks (limestone), groundwater is created. Porous rocks or strata need to be connected to the earth for these fluids to form (Anonymous, 2020). After the groundwater seeps down and moves up to the impermeable layer, it is collected in layers called aquifers.

Approximately 3% of the water on earth is freshwater resources, and approximately 31.4% of these resources are groundwater. 65% of these waters are used for agricultural purposes, 25% for drinking and use and 10% for industrial purposes. Groundwater is a natural resource that has been used for a long time, as it generally does not require any treatment process and can be put into operation immediately (Özbay et al., 2011).

The conservation and management of groundwater is the subject of numerous national and international treaties and laws, and the Ministry of Agriculture and Forestry in our nation conducts a number of monitoring and protection initiatives to guard against groundwater pollution and degradation. Agricultural activities are absolutely necessary for human survival. Water is also needed for the continuation of these plant and animal activities. It is very difficult to sustain these activities with only seasonal rainfall, especially for our country, which has a continental climate in many regions. In the cultivation of field and industrial crops, the need for water, which cannot be met by seasonal rainfall, is tried to be met with additional irrigation, and groundwater also plays an important role in this form of

production.

In the Mardin-Kızıltepe plain, the rainfall regime in continental climate conditions is in the form of rain rather than snowfall due to changing climatic conditions, and most of these precipitations occur in winter and spring. The plain, with its extremely fertile soils, is typically 600 meters above sea level, with a slope of less than five percent, low drainage density, I and II classes, and a brownish-reddish soil structure. The main agricultural products cultivated in the plain include wheat, legumes, industrial plants, and fodder crops. With the subsidies provided by the Ministry of Agriculture and Forestry, the cultivation areas of strategic crops such as cotton have increased, and the climatic conditions are suitable for mechanization, the cultivation areas of second crop agriculture have expanded considerably (approximately 70 000 ha. as of 2019) (Anonymous). The two crops that need the most water among them are cotton and maize, and boreholes are used to supply this water.

The number of boreholes, which was approximately 500 between 1995 and 2000, has reached nearly 10,000 as of 2019. As a result, the rate of irrigated agriculture in the region has increased, and the yield of the crops that are still cultivated has increased considerably. In a region with such a high density of borehole irrigation wells, the management, use and protection of groundwater is essential.

Since determining the status and conditions of groundwater requires a lot of labor and cost, Geographic Information Systems and Remote Sensing techniques have been used in recent years to reduce this cost and labor requirement (Anbazhagan & Jothibas, 2016; Aslan, 2019;

Bagyaraj et al., 2013; Balamurugan et al., 2017; Çelik, 2016; Çelik & Hamidi, 2017, 2018; Çelik & Toprak, 2016; Charoenpong et al., 2012; Sener et al., 2005).

In this study, it is aimed to create thematic maps of Static Water Level (SWL), Dynamic Water Level (DWL), Well Depth (WD), and Well Yield (WY) data and analyze the rates of change by collecting 34 years (1985–2019) of borehole data available in Mardin-Kızıltepe Plain with the help of GIS techniques.

## Materials and Methods

The Kızıltepe Plain of Mardin Province was designated as the research area. This basin consists of a total area of 296211 ha covering the plain areas of Artuklu, Derik, Kızıltepe, Nusaybin, and Yeşilli Districts. This area is home to 321 villages and hamlets.

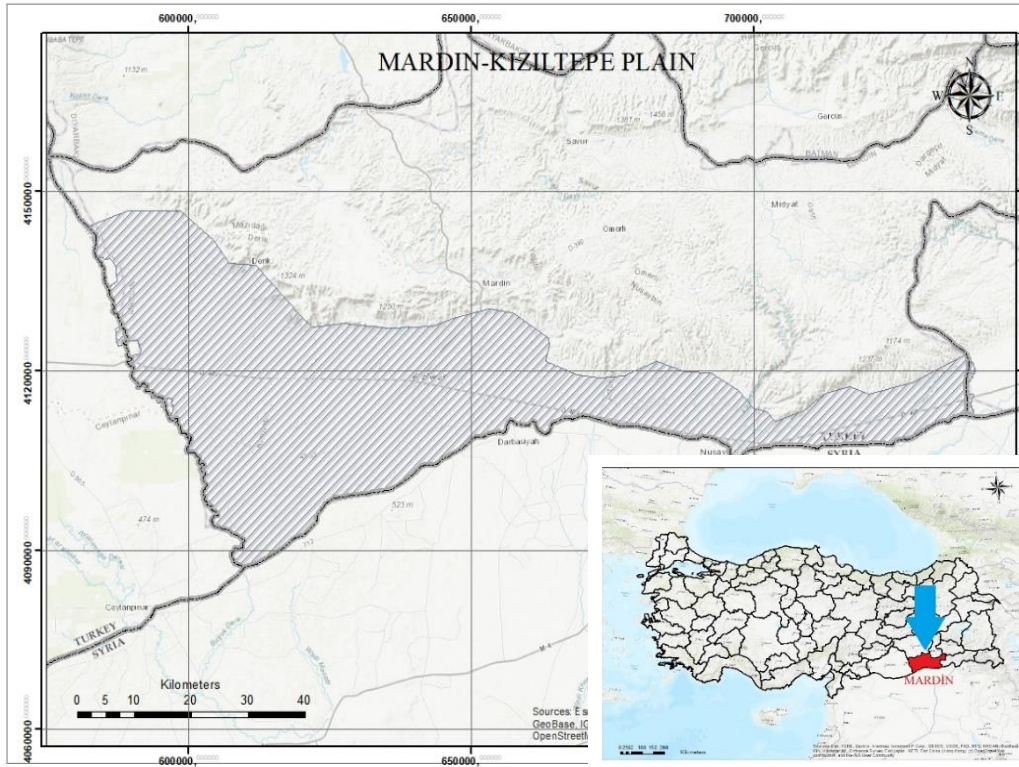


Figure 1. Mardin Kızıltepe Plain

The land is generally flat, with an altitude of 450–650 m. The region's soils have clayey-loamy, silty-loamy, and silty-clayey-loamy structures. Many agricultural products can be grown on these highly fertile soils. The main products grown in the region are wheat, barley, lentils, chickpeas, cotton, and corn. The climate and temperature characteristics of the region allow for the cultivation of cotton as a first and second crop, as

well as corn as a second crop. In addition, the yield obtained from wheat increases up to two times under irrigated conditions. Although the temperature characteristics are suitable, the amount and regime of precipitation are insufficient for cotton and corn cultivation and necessitate supplementary irrigation. This water need is largely tried to be met through borehole irrigation wells.

Table 1. Mardin Province Field Crops Production Information (Source: Tük data)

	1993		2019	
	Planted Area (ha)	Yield (kg/ha)	Planted Area (ha)	Yield (kg/ha)
Wheat	113467	2059	173209	3640
Barley	84300	2447	28360	2530
Lentil	107789	1066	27702	1460
Chickpea	7517	1382	7559	1560
Vetch	750	1049	1235	1540
Maize	11	9455	44442	9480
Cotton	13230	1032	13016	1860
Alfalfa	3	2666*	500	12000*

\*: Green grass

Table 2. Artuklu-Derik-Kızıltepe-Nusaybin Districts Field Crops Production Information (Source: Tük data)

	2004		2019	
	Planted Area (ha)	Yield (kg/ha)	Planted Area (ha)	Yield (kg/ha)
Wheat	102569	3480	143127	3610
Barley	45246	3157	12974	2675
Lentil	41657	1213	16943	1400
Chickpea	450	1167	3043	1678
Maize	12856	7373	43313	9065
Cotton	15733	2373	11458	2865
Alfalfa	0	0	500	12000*

\*: Green grass

As can be understood from Table 1, the cultivation areas of barley and lentil plants, which do not need much water, decreased by approximately 136000 ha in 2019 compared to 1993, while the cultivation of wheat and corn crops, which can be irrigated or cultivated as a second crop, increased by 100000 ha. In addition, the yield per hectare of all crops has increased.

Similarly, as can be seen in Table 2, based on the cultivation areas of the districts in the study area, barley and lentil cultivation areas decreased by approximately 57000 ha compared to 2004, wheat and corn cultivation areas increased by 71000 ha, wheat, lentil, chickpea, corn and cotton products yielded increased per hectare, and alfalfa (green grass) plant, which was not cultivated in 2004, had 500 hectares of cultivation.

In Mardin Province, irrigated agricultural land was 17.6% with 67926.5 ha and 317552.2 ha was

82.4% in 2000, while irrigated agricultural land increased to 47.7% with 150000 ha and dry agricultural land decreased to 52.3% with 164503 ha in 2019 (Mardin Provincial Directorate of Agriculture and Forestry, 2001-2019). The biggest reason for this increase in irrigated agricultural lands has been the newly drilled borehole irrigation wells.

The region has a continental climate with hot and dry summers and mild and rainy winters. According to the data obtained from the General Directorate of Meteorology (MGM), the average annual temperature is 16.1 °C. The average annual precipitation is 667 mm, and precipitation is usually in the form of rain. The highest temperature is 42.5 °C, and the lowest temperature is -14 °C (MGM, 2022). Table 3 shows the meteorological data table for this period.

Table 3. Meteorological data

Mardin	Avr. Temp (°C)	Avr. Sunshine Duration (hours)	Avr. Number of Rainy Days	Avr. Monthly Total Rainfall (mm)	Highest Temp (°C)	Lowest Temp (°C)
January	3.1	4.5	12	116.7	19.4	-13.4
February	4.2	5.1	10.6	103.7	19.5	-14
Mart	8	6	11.5	96.4	27.5	-11.7
April	13.5	7.3	10.3	82	33.6	-5.3
May	19.5	9.7	7.3	45.8	35.4	2.6
June	25.7	12.2	1.5	4.5	40	5
July	30	12.4	0.5	1.3	42.5	11.8
August	29.7	11.5	0.2	0.5	42	12.8
September	25.2	10.3	0.7	1.9	39.3	8
October	18.4	7.7	5.1	33.2	35.6	-2.5
November	10.9	5.9	7.6	71.1	26.1	-9.5
December	5.3	4.3	10.8	110.7	24.1	-11.9
Annual	16.1	96.9	78.1	667.8		

The average annual temperature, which was 15.5 °C in the 1940s, approached 17 °C in the 2020s, whereas the average annual precipitation,

which was around 750 mm, dropped below 600 mm (MGM, 2022). This situation has also significantly affected the groundwater potential.

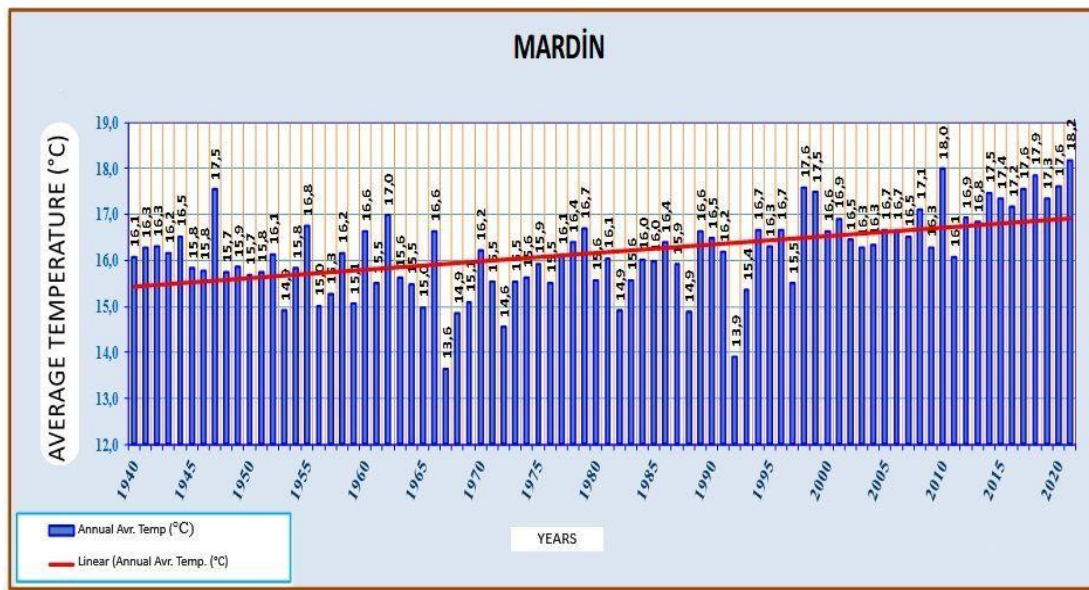


Figure 2. Annual Average and Trend of Monthly Average Temperature Values

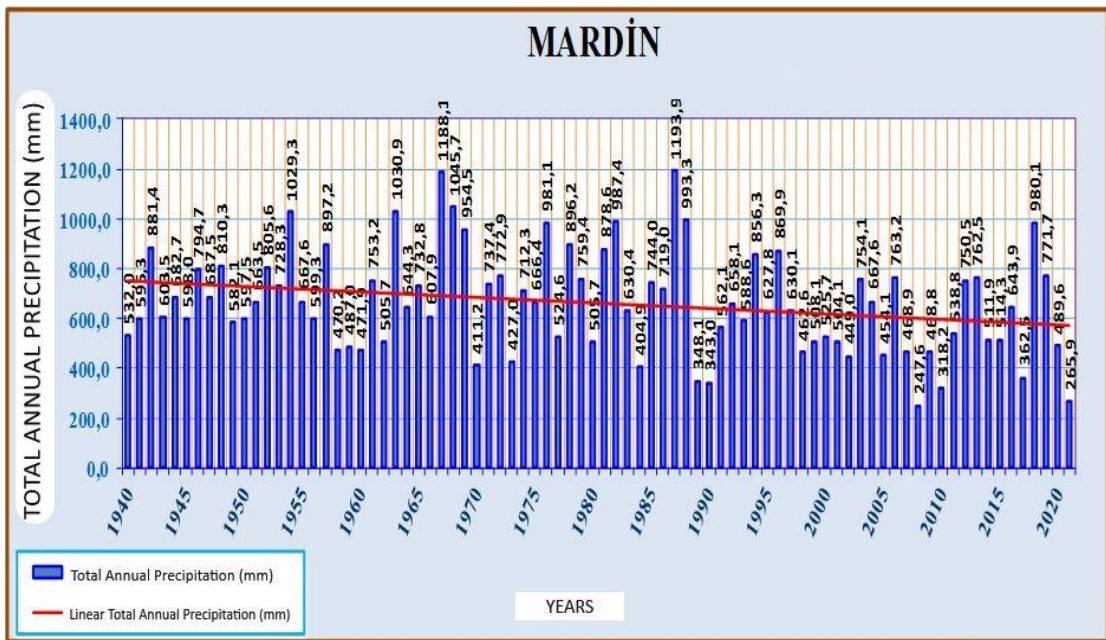


Figure 3. Distribution and Trend of Annual Total Precipitation Data

In this study, information on 34 years (1985–2019) of boreholes in Mardin-Kızıltepe Plain was obtained from the DSİ Regional Directorate. This information includes the owner of the well, administrative location of the land where the well is located at the province/district/village level, point coordinates of the borehole, date of drilling, SWL (m) and DWL (m), WY (lt/sec) WD (m). The 2567 remaining points were categorized into 5-

year periods using the following criteria: Period-1 (1985-1990), Period-2 (1991-2005), Period-3 (1996-2000), Period-4 (2001-2005), Period-5 (2006-2010), Period-6 (2011-2015), and Period-7 (2016-2019), after eliminating points with incorrect or incomplete information. Statistical information of the data used in the study is given in Table 4 and spatial information is given in Figure 4.



Table 4. Statistical information of the borehole irrigation wells used in the study

Period		Number of Well	Min	Max	Median	Mean	Standard Deviation	CV (%)
1985-1990	SWL	4	10	27	19.0	18.8	8.5	45.3
	DWL	4	27	58	46.0	44.3	14.0	31.7
	WD	4	46	167	82.0	94.3	53.4	56.7
	WY	4	2	10	3.8	4.9	3.8	77.8
1991-1995	SWL	12	11	90	62.5	57.0	22.2	39.0
	DWL	12	27	115	87.5	78.3	28.1	35.9
	WD	12	65	200	155.0	145.2	43.3	29.8
	WY	12	5	20	20.0	17.3	4.4	25.2
1996-2000	SWL	497	10,3	182	86.0	87.4	25.2	28.8
	DWL	497	32,7	200	111.0	112.6	27.1	24.0
	WD	497	40	350	185.0	176.1	42.9	24.3
	WY	497	6	40	14.0	14.3	4.4	31.0
2001-2005	SWL	123	12	210	96.0	103.7	31.4	30.3
	DWL	123	30	250	140.0	146.6	33.6	22.9
	WD	123	50	500	280.0	286.0	85.1	29.8
	WY	123	1,8	50	15.0	15.9	7.3	46.0
2006-2010	SWL	445	12	290	115.0	137.6	59.2	43.0
	DWL	445	21	340	175.0	186.1	61.6	33.1
	WD	445	40	610	370.0	330.4	89.5	27.1
	WY	445	0,5	58	22.0	21.3	9.6	45.3
2011-2015	SWL	468	19	310	188.0	175.8	54.9	31.2
	DWL	468	70	380	230.0	221.9	54.5	24.6
	WD	468	81	648	500.0	455.6	94.5	20.7
	WY	468	0,5	55	17.0	18.6	10.8	57.9
2016-2019	SWL	1018	15	310	128.0	129.6	41.9	32.3
	DWL	1018	40	620	440.0	400.2	102.9	25.7
	WD	1018	30	350	195.0	200.2	50.0	25.0
	WY	1018	1	61	27.0	25.3	9.6	37.8

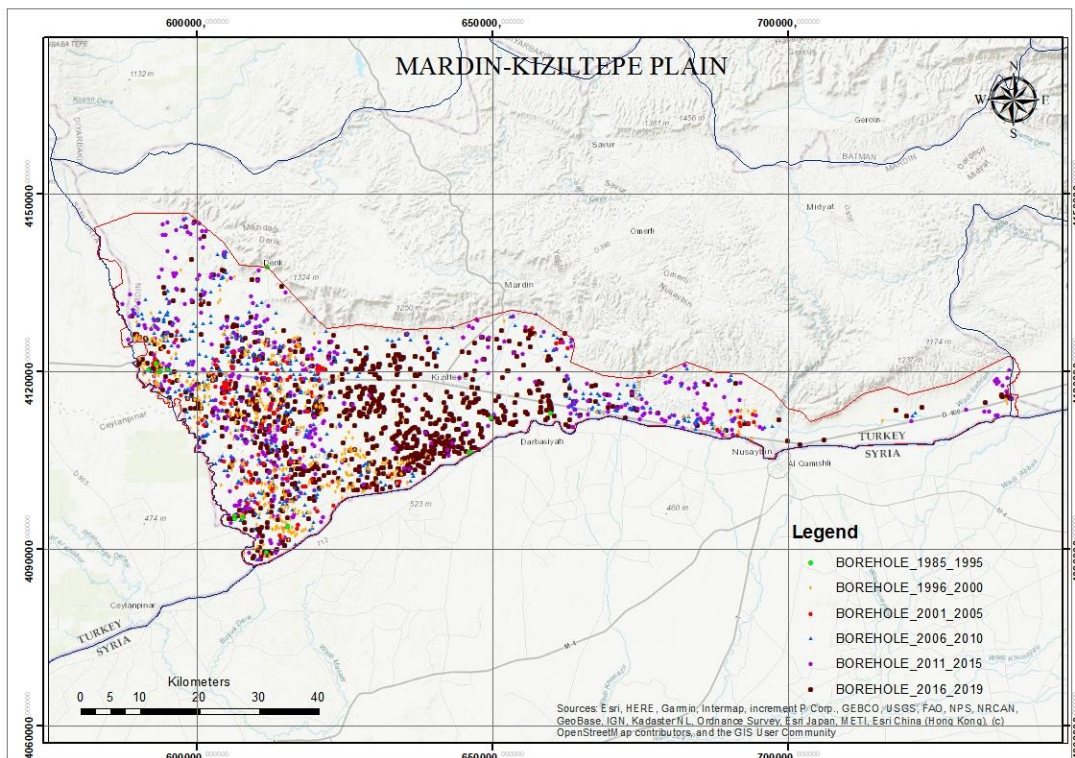


Figure 4. Representation of borehole points classified by year

In the study, point information was organized and sorted using the Microsoft Office Excel (Microsoft, Washington, United States of America) program, and points with missing and incorrect information were removed. After that, the well

point location data was digitized and entered into the ArcGIS environment (Esri, Southern California, United States). Interpolation analyses were then run on the point data, and maps were generated.

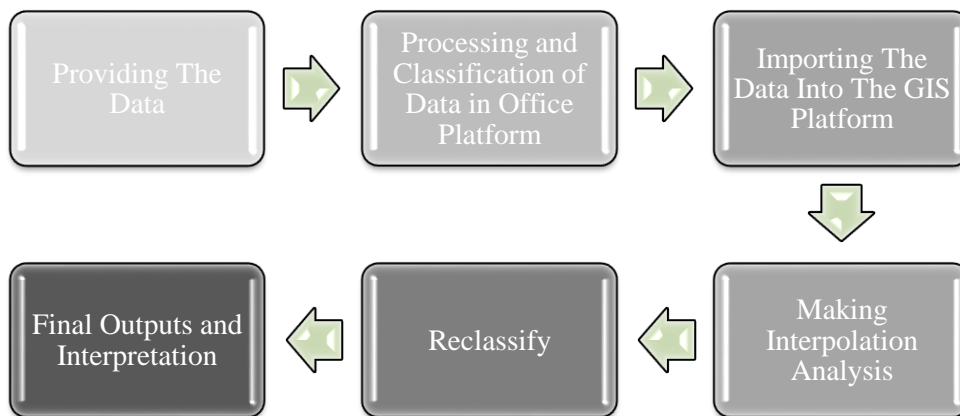


Figure 5. Work Flow Chart

Spatial interpolation can be defined as the process of estimating the values of unknown points based on known points with defined locations and values. Spatial interpolation results in the use of distance-based spatial estimation methods to convert discrete data defined on point data into continuous data (Bakiş et al., 2012). It is an interpolation method that takes into account all

sample points based on the principle that when calculating the value of a point, nearby points have a more significant influence based on their distances to that point, while distant points have a lesser effect (Konuk, 2011). The IDW formula is given in the following equation.

$$Z = [(\sum_{i=1}^n (Z_i/d_i^m) / \sum_{i=1}^n (1/d_i^m))] \quad (1)$$

$Z$ : Estimated value,  $Z_i$ : at known point,  $d_i$ : estimated and point i, m: force of gravity.  
 distance between the point whose value is to be

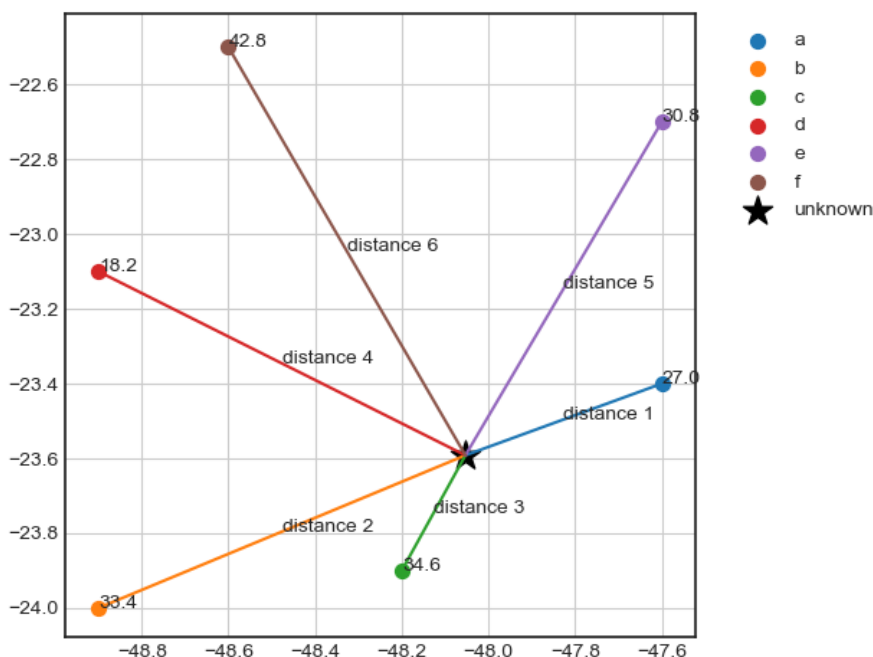


Figure 5. Weighting with the Inverse of Distance (http-2)

The data were analyzed according to the IDW technique, one of the interpolation methods, and the weighting method according to the inverse of the distance. Analysis parameters; Output cell size: 100 m, Search Radius: Variable, Number of Points: 12, Power: 2.

maps more visually meaningful and to enable better observation and interpretation of the data, they were subjected to a reclassify process and period thematic maps were produced. The parameters related to SWL, DWL, WD and WY used in this process are given in Table 5.

In order to make the obtained analysis raster

Table 5. Parameters related to SWL, DWL, WS and CV water level classes

SWL	Class	m
	Shallow	0-50
	Normal	51-100
	Deep	101-200
	Very Deep	200->
DWL	Class	m
	Shallow	0-50
	Normal	51-100
	Deep	101-200
	Very Deep	200->
WD	Class	m
	Shallow	0-100
	Normal	101-200
	Deep	201-300
	Very Deep	300->
WY	Class	lt/sec
	Less Efficient	0-10
	Normal	11-20
	Efficient	20-30
	Very Efficient	30->

**Results and Discussion**

The borehole data in Mardin-Kızıltepe plain, which was selected as the study area, were processed, classified according to years, transferred to the map environment, spatial interpolation analysis (IDW method) was performed, existing well data were evaluated, areas with missing data were calculated and point data were converted into raster data. In the last step, in order to better interpret the data visually, groundwater SWL, DWL, WD and WY thematic

maps and areal distribution tables were produced by years by reclassify the data and thus the change in groundwater level by years was tried to be determined.

Visuals related to the change in static water level are presented in Figures 6 a-b-c-d-e-f-g, and the spatial distribution is provided in Table 6. In the SWL spatial distribution, the ratio of shallow and normal classes decreased from 100% in Period-1 to 7.5% in Period-7, whereas the ratio of deep and very deep classes increased from 0% in Period-1 to 92.5% in Period-7.

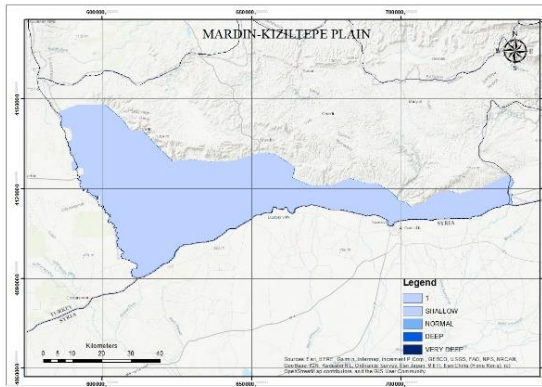


Figure 6-a Thematic map of Period-1 SWL

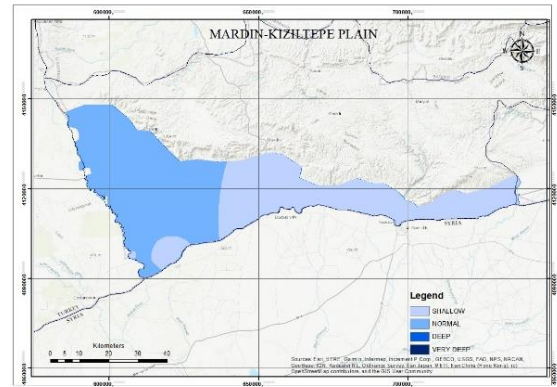


Figure 6-b Thematic map of Period-2 SWL

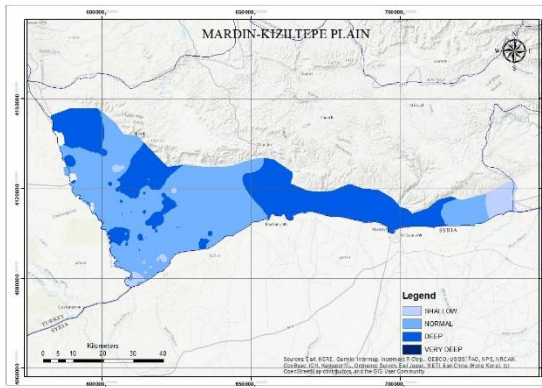


Figure 6-c Thematic map of Period-3 SWL

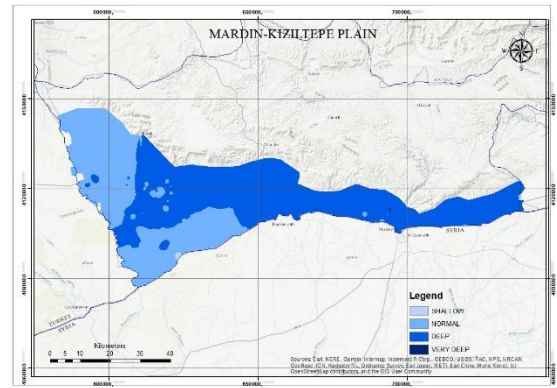


Figure 6-d Thematic map of Period-4 SWL

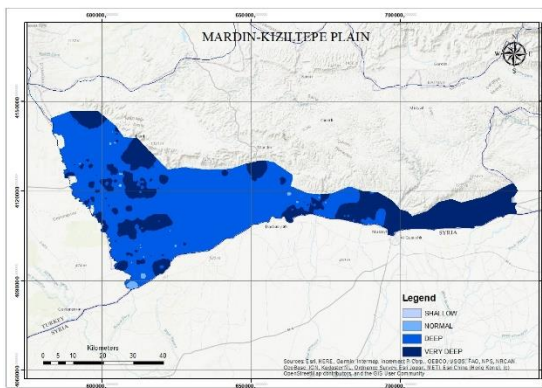


Figure 6-e Thematic map of Period-5 SWL

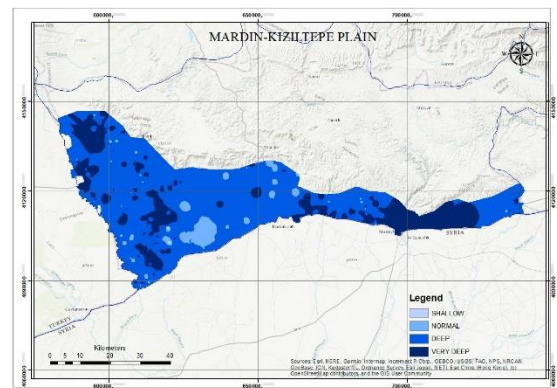


Figure 6-f Thematic map of Period-6 SWL

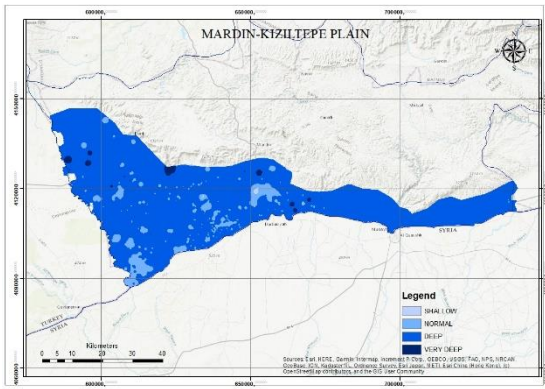


Figure 6-g Thematic map of Period-7 SWL

Table 6. SWL areal distribution table in 7 periods

Class	Distribution (%)						
	Period-1	Period-2	Period-3	Period-4	Period-5	Period-6	Period-7
Shallow	100	44.5	4.2	0.1	0.0	0.0	0.1
Normal	0.0	55.5	56.7	40.5	0.5	4.8	7.4
Deep	0.0	0.0	39.1	59.7	67.9	72.7	91.5
Very	0.0	0.0	0.0	0.0	31.5	22.5	1.0

Visuals related to the changes in dynamic water levels are presented in Figures 7 a-b-c-d-e-f-g, and the spatial distribution is provided in Table 7. In the areal distribution of DWL, the ratio of shallow and

normal classes decreased from 100% in Period-1 to 0.2% in Period-7, whereas the ratio of deep and very deep classes increased from 0% in Period-1 to 99.8% in Period-7.

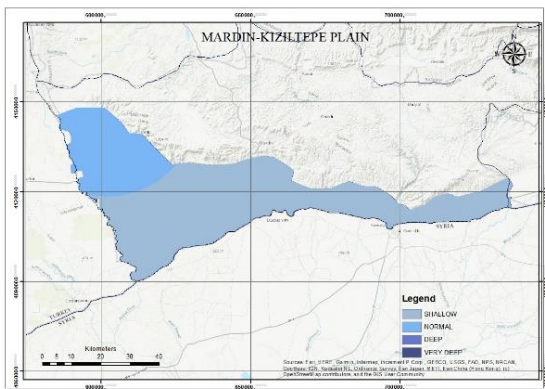


Figure 7-a Thematic map of Period-1 DWL

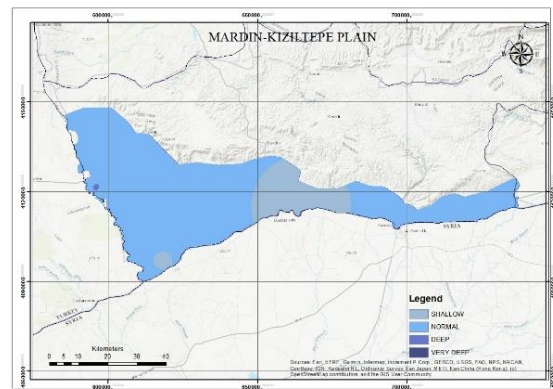


Figure 7-b Thematic map of Period-2 DWL

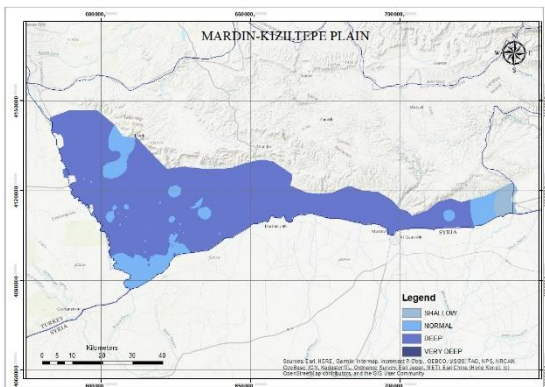


Figure 7-c Thematic map of Period-3 DWL

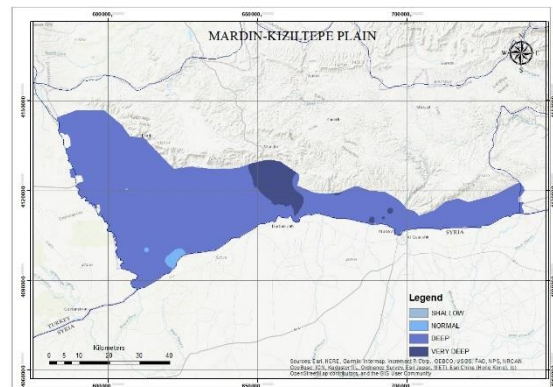


Figure 7-d Thematic map of Period-4 DWL

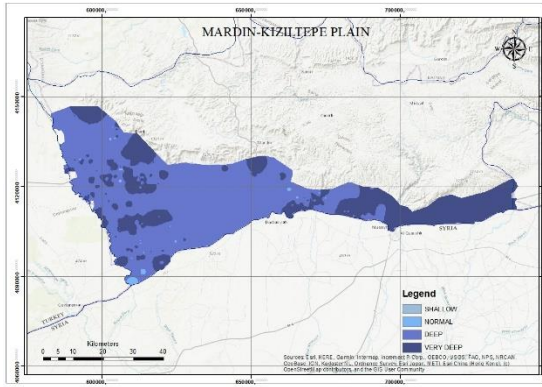


Figure 7-e Thematic map of Period-5 DWL

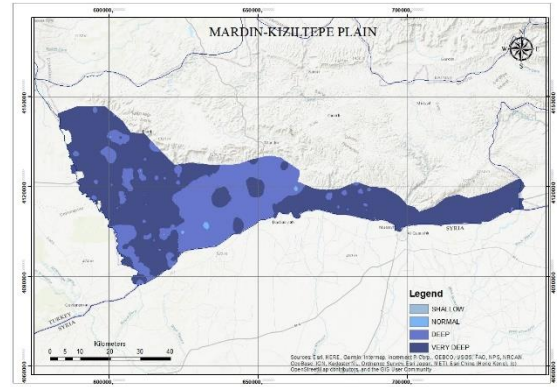


Figure 7-f Thematic map of Period-6 DWL

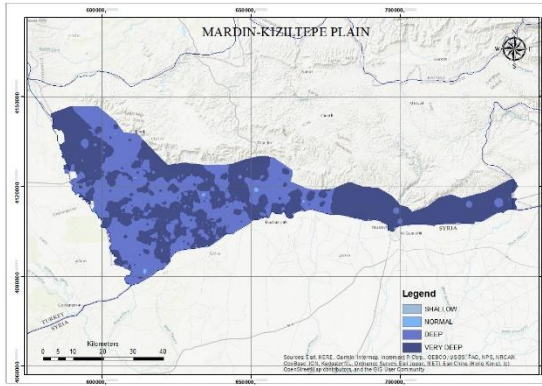


Figure 7-g Thematic map of Period-7 DWL

Table 7. DWL areal distribution table in 7 periods

Class	Distribution (%)						
	Period-1	Period-2	Period-3	Period-4	Period-5	Period-6	Period-7
Shallow	74.3	14.4	2.1	0.0	0.0	0.0	0.0
Normal	25.7	85.5	13.4	0.9	0.5	0.2	0.2
Deep	0.0	0.1	84.5	92.4	67.9	32.5	42.9
Very	0.0	0.0	0.0	6.7	31.5	67.3	56.9

The visuals related to the change in well depth are presented in Figures 8 a-b-c-d-e-f-g, and the spatial distribution is provided in Table 8. In the areal distribution of WD, shallow and normal class

ratios decreased from 100% in Period-1 to 0.3% in Period-7, whereas deep and very deep class ratios increased from 0% in Period-1 to 94.7% in Period-7.

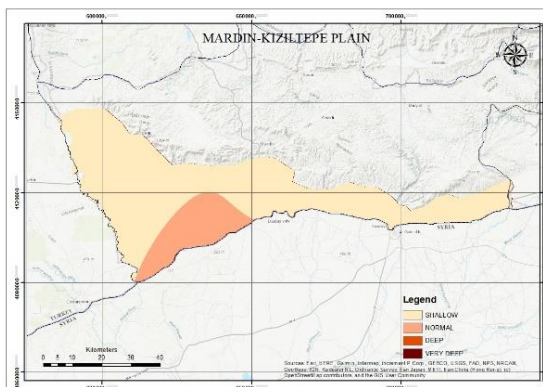


Figure 8-a Thematic map of Period-1 WD

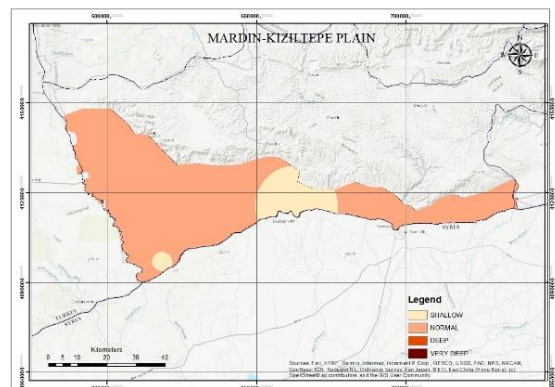


Figure 8-b Thematic map of Period-2 WD

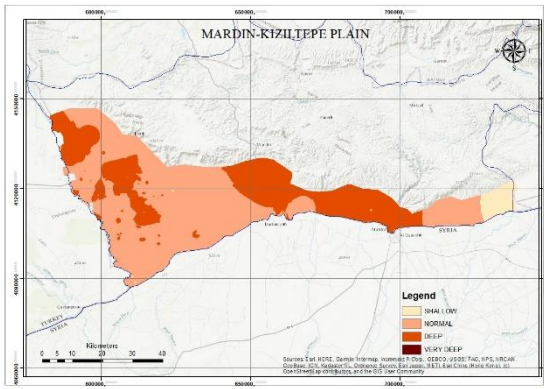


Figure 8-c Thematic map of Period-3 WD

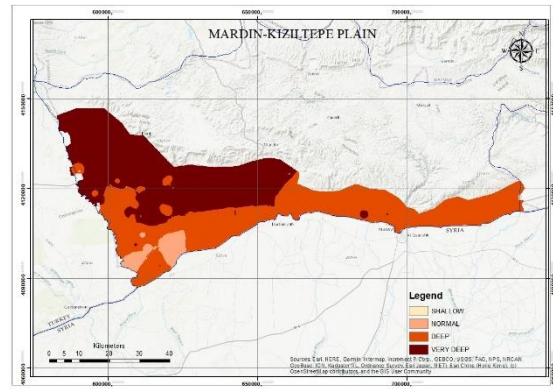


Figure 8-d Thematic map of Period-4 WD

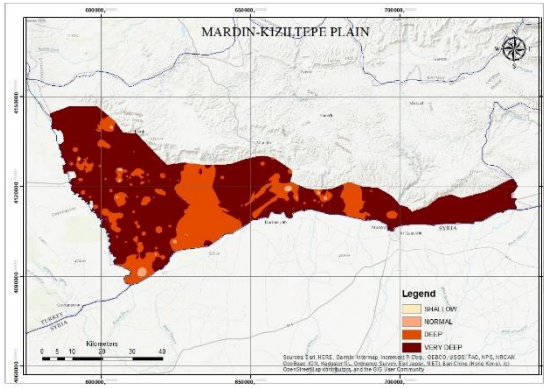


Figure 8-d Thematic map of Period-4 WD

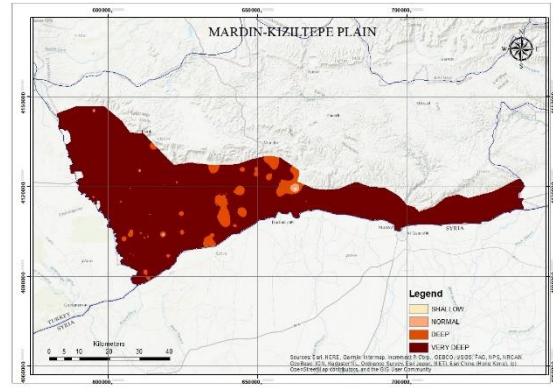


Figure 8-f Thematic map of Period-6 WD

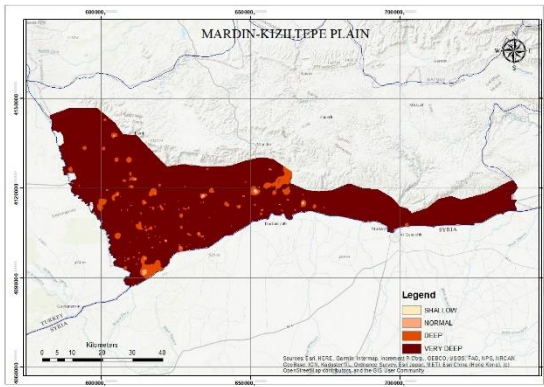


Figure 8-g Thematic map of Period-7 WD

Table 8. WD areal distribution table in 6 periods

Class	Distribution (%)						
	Period-1	Period-2	Period-3	Period-4	Period-5	Period-6	Period-7
Shallow	83.7	11.6	3.5	0.0	0.0	0.0	0.0
Normal	16.3	88.4	62.3	4.3	0.7	0.2	0.3
Deep	0.0	0.0	34.2	48.2	26.3	5.5	5.0
Very Deep	0.0	0.0	0.0	47.4	73.0	94.3	94.7

The visuals related to the change in well yield are presented in Figures 9 a-b-c-d-e-f-g, and the spatial distribution is provided in Table 9. In terms of WY area distribution, the ratio of less productive

and normal classes decreased from 100% in Period-1 to 21.7% in Period-7, whereas the ratio of productive and very productive classes increased from 0% in Period-1 to 78.3% in Period-7.

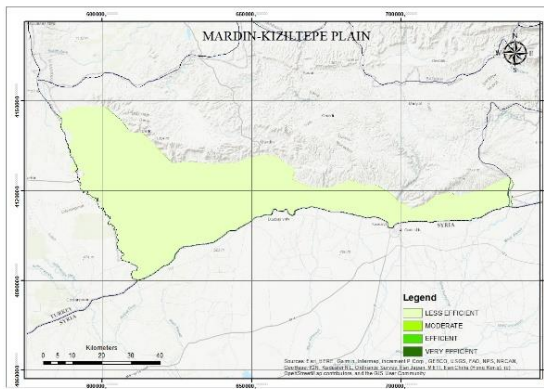


Figure 9-a Thematic map of Period-1 WY

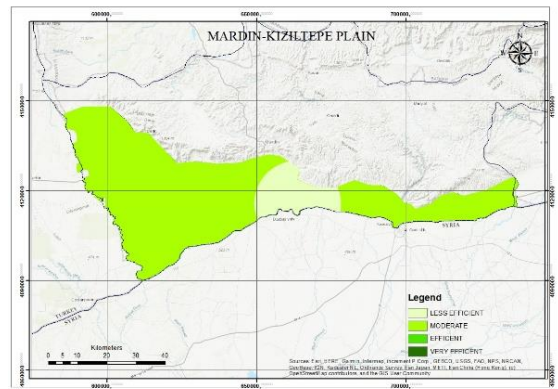


Figure 9-b Thematic map of Period-2 WY

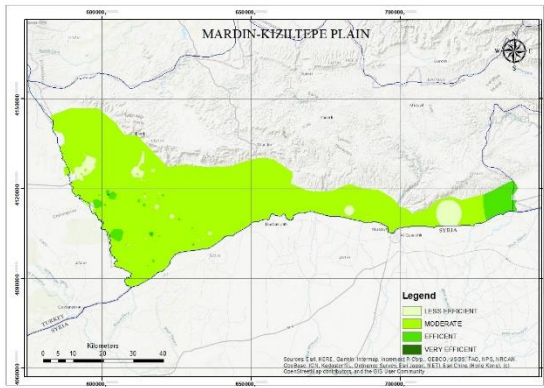


Figure 9-c Thematic map of Period-3 WY

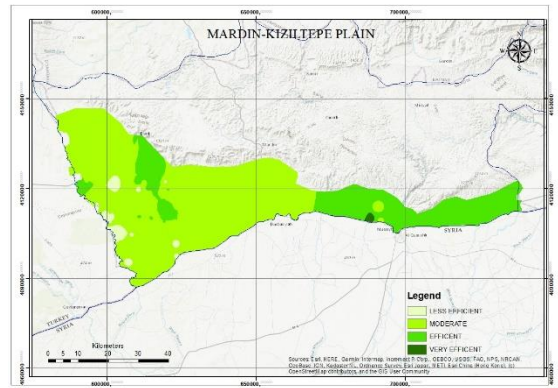


Figure 9-d Thematic map of Period-4 WY

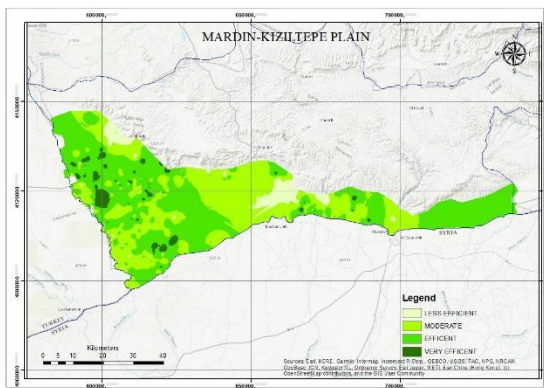


Figure 9-e Thematic map of Period-5 WY

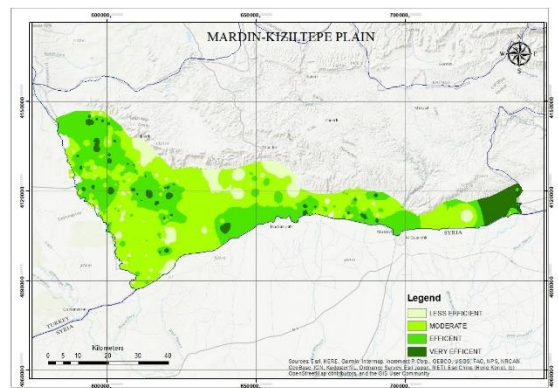


Figure 9-f Thematic map of Period-6 WY

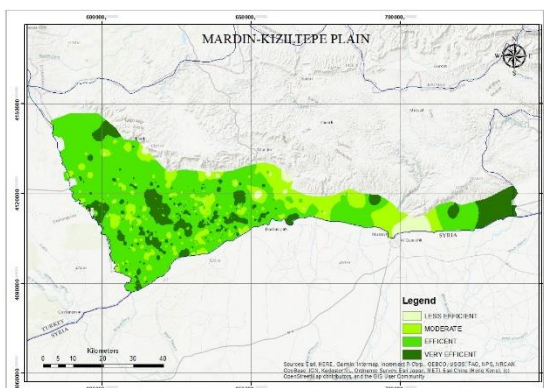


Figure 9-g Thematic map of Period-7 WY

Table 9. WY areal distribution table in 6 periods

Class	Distribution (%)						
	Period-1	Period-2	Period-3	Period-4	Period-5	Period-6	Period-7
Shallow	100	11.2	4.3	2.4	5.3	9.2	3.0
Normal	0.0	88.8	91.3	71.4	40.0	52.2	18.7
Deep	0.0	0.0	4.4	25.9	51.5	32.5	63.1
Very Deep	0.0	0.0	0.0	0.2	3.1	6.1	15.3



In terms of SWL, DWL, WD, and WY, the distributions of the classes in Period-1 and Period-

7 were compared, and these values are given in Table 7.

Table 10. Comparison of Period-1 and Period-7 values in terms of groundwater values

		Period-1	Period-7
SWL	Class	Distribution (%)	Distribution (%)
	Shallow	100	0.1
	Normal	0.0	7.4
	Deep	0.0	91.5
	Very Deep	0.0	1.0
DWL	Class	Distribution (%)	Distribution (%)
	Shallow	74.3	0.0
	Normal	25.7	0.2
	Deep	0.0	42.9
	Very Deep	0.0	56.9
WD	Class	Distribution (%)	Distribution (%)
	Shallow	83.7	0.0
	Normal	16.3	0.3
	Deep	0.0	5.0
	Very Deep	0.0	94.7
WY	Class	Distribution (%)	Distribution (%)
	Less Efficient	100	3.0
	Moderate	0.0	18.7
	Efficient	0.0	63.1
	Very Efficient	0.0	15.3

The SWL shallow class ratio, which had been 100% in Period-1, decreased to 0.1% in Period-7, whereas the deep class ratio, which had been 0.0% in Period-1, increased to 91.5% in Period-7. The DWL shallow and normal class ratios, which had been 74.3% and 25.7% in Period-1, decreased to 0% and 0.2% in Period-7, respectively, whereas the deep and very deep class ratios, which had been 0% in Period-1, increased to 42.9% and 56.9% in Period-7.

While the WD shallow class rate was 83.7% and the normal class rate was 16.3% in Period-1, these values decreased to 0% and 0.3% in Period-7, respectively, whereas the WD deep and very deep class rates were 0% in Period-1, these rates became 5.0% and 94.7% in Period-7, respectively.

While the low-productivity class rate, which was 100% in Period-1, decreased to 3.0% in Period-7, the productive and very productive class rates, which were 0% in Period-1, increased to 63.1% and 15.3% in Period-7, respectively.

Accordingly, while the SWL shallow class area ratio in the whole Plain was 100% in Period-1, it decreased to 7.4% in Period-7, whereas the deep

and very deep class ratio, which was 0% in Period-1, became 92.5%. While the ratio of shallow and normal classes was 99.9% in DWL Period-1, it decreased to 0.2% in Period-7, and the ratio of 0.1% in deep and very deep classes in Period-1 increased to 99.8% in Period-7. In terms of WD, while 100% of the well depths drilled in Period-1 were in the shallow and normal class, this rate decreased to 0.3% in Period-7, and the deep and very deep class rate increased to 99.7%. In other words, water levels have been falling over the years and well depths have been increasing.

It is understood from this that the static and dynamic water levels of groundwater have been decreasing over the years and the depths of wells have been increasing. Thus, it costs more to dig deeper wells, and more energy and labor is spent to extract water from such a deep distance. This is reflected in product costs, increasing product prices and limiting the cultivation areas of some crops such as cotton. In addition, the increasing need for energy brings along some social and economic problems.

With the increasing number of wells, irrigated

agriculture opportunities have increased in the region, yield increases in the crops grown, and second crop agriculture opportunities have emerged (Table 1 and Table 2). This has led to more water use, and with the addition of climate change and irregularities in the precipitation regime, increase in average temperatures (Figure

2) and decrease in average precipitation (Figure 3), groundwater levels have decreased.

Using the Period-7 (2016-2019) data, SWL was weighted as 20%, DWL as 30%, and WY as 50%, and a groundwater map was obtained in terms of operation (Figure 10).

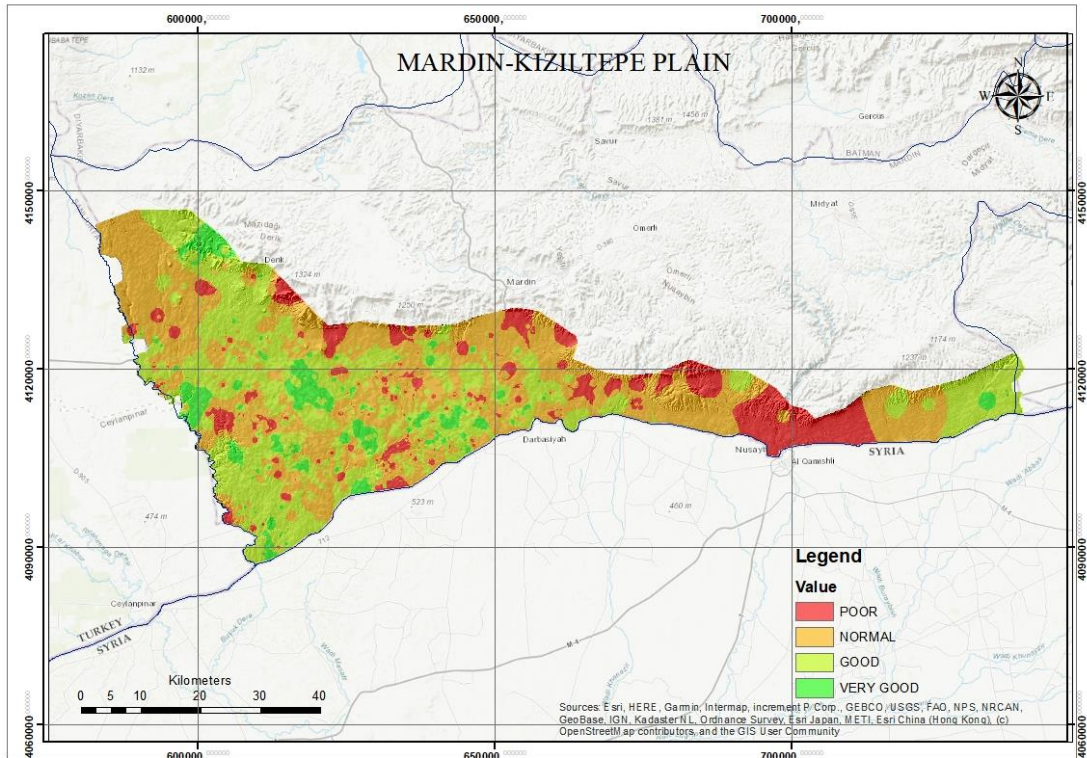


Figure 10. Thematic map of groundwater

Accordingly, 13.2% of the area is classified as poor (39,078.4 ha), 44% as normal (130,372.3 ha), 36.2% as good (107,295.1 ha) and 6.6% as very good (19,465.2 ha) in terms of groundwater management.

Most of the region (approximately 237,667 ha) is classified as normal and good. However, when evaluated together with other data, studies are required for the protection and management of groundwater in the basin. This is an urgent issue in

the plain where there are nearly 10,000 borehole irrigation wells together with unlicensed wells.

Fourteen reference well points drilled in Period-3 (1996–2000) were selected from different regions, and the change in static and dynamic water levels was calculated in a GIS environment and presented graphically. Figure 11 shows where these reference points are located.

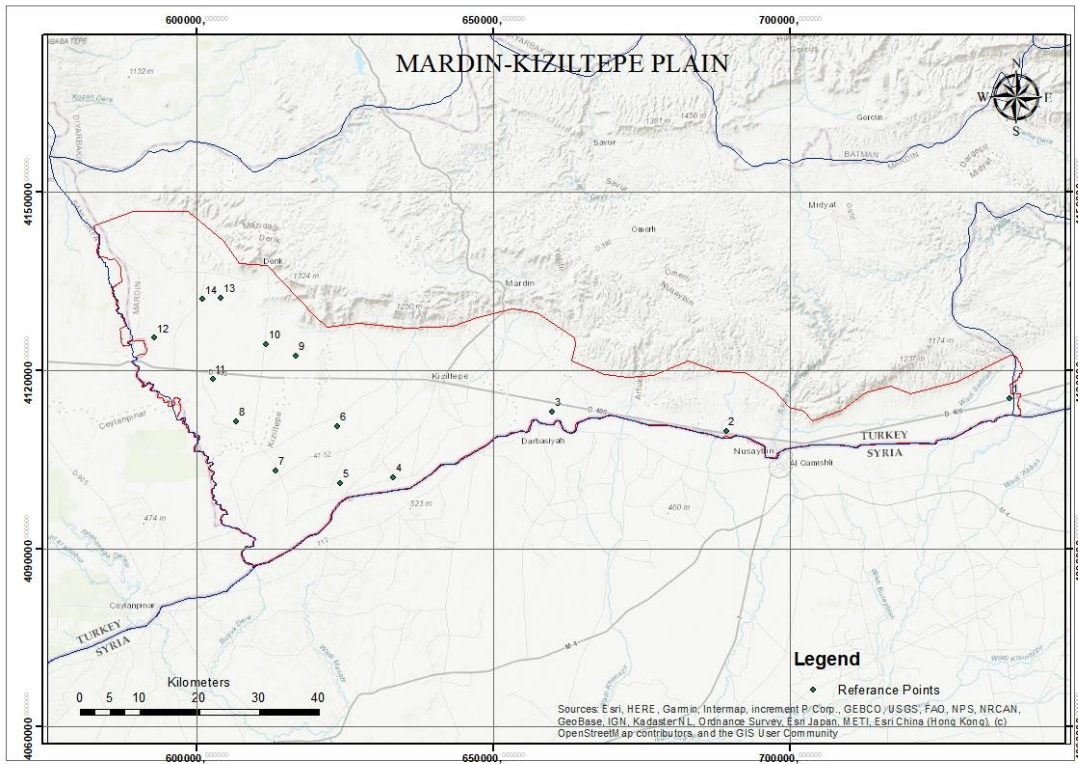


Figure 11. Location map of reference points

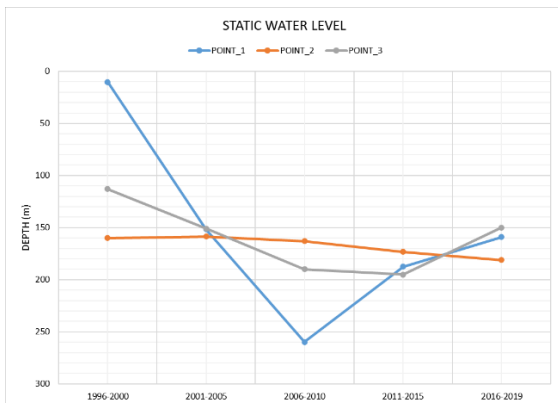


Figure 12-a SWL change at reference points 1-2-3

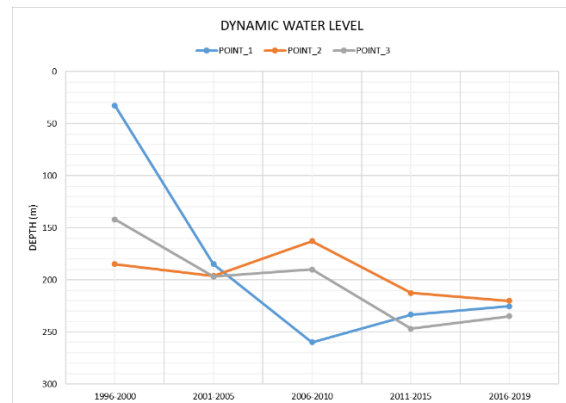


Figure 12-b DWL change at reference points 1-2-3

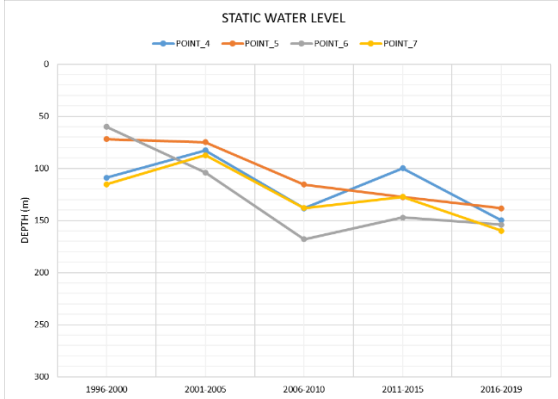


Figure 12-c SWL change at reference points 4-5-6-7

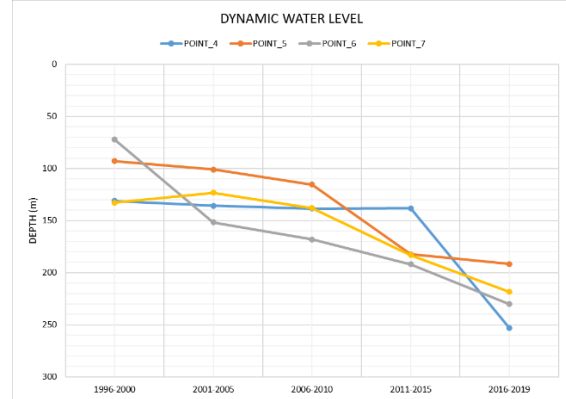


Figure 12-d DWL change at reference points 4-5-6-7

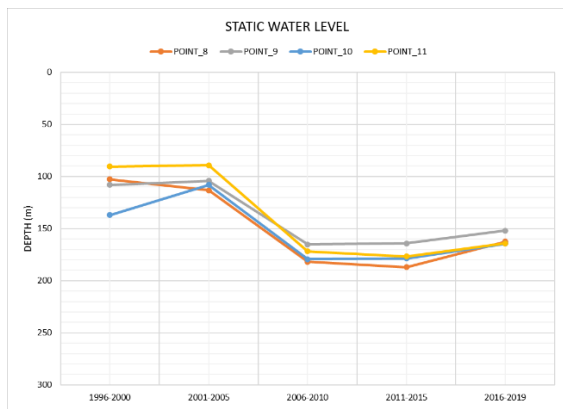


Figure 12-e SWL change at reference points 8-9-10-11

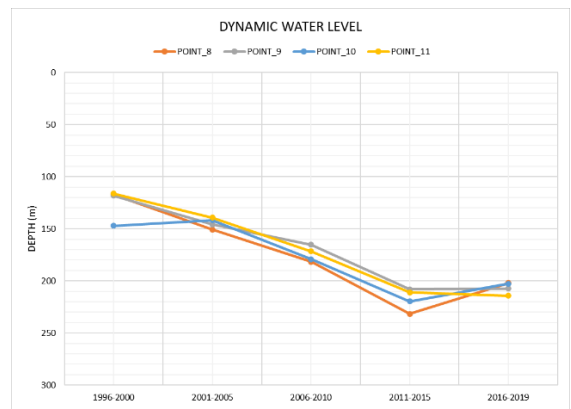


Figure 12-f DWL change at reference points 8-9-10-11

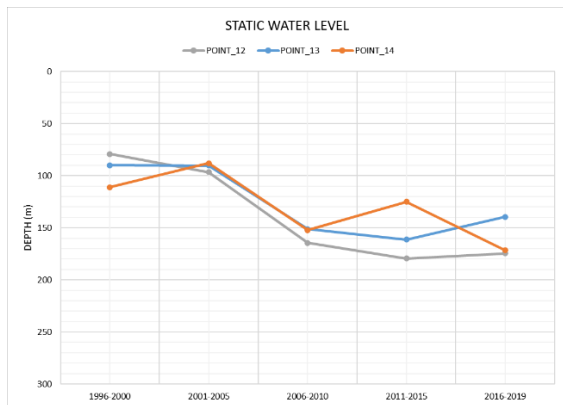


Figure 12-g SWL change at reference points 12-13-14

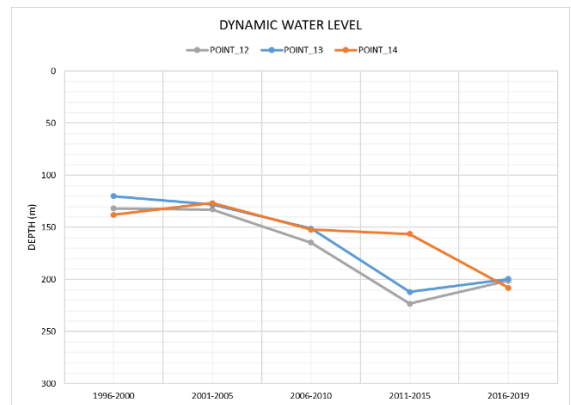


Figure 12-h DWL change at reference points 12-13-14

Table 11. Period-3 and Period-7 change table for Reference Points

Point Name	SWL (m)			DWL (m)		
	Period-2	Period-7	Difference	Period-2	Period-7	Difference
1	10	159	149	33	225	193
2	160	181	21	185	220	35
3	113	150	37	142	235	93
4	109	150	41	131	253	122
5	72	138	67	93	192	99
6	60	154	94	72	230	158
7	115	160	45	133	218	85
8	103	163	60	117	202	85
9	108	152	44	118	208	89
10	137	164	28	147	203	56
11	90	164	74	116	214	98
12	79	175	95	132	201	69
13	90	139	49	120	199	79
14	111	172	61	138	208	70

SWL is 21-149 m at points 1-2-3 in the eastern and southern parts of the plain (Nusaybin and Artuklu), 41-94 m at points 4-5-6-7 in the southwestern part of the plain (Kızıltepe), and 28-74 m at points 8-9-10-11 in the western part of the plain (Kızıltepe-Derik). In the northwestern parts of the plain (Derik), it was observed that there was a decrease between 49-61 m in points 12-13-14, 35-193 m in points 1-2-3, 85-158 m in points 4-5-6-7,

56-98 m in points 8-9-10-11, and 69-79 m in points 12-13-14.

When the reference point regions are analyzed, in the Artuklu and Nusaybin areas in the southern and southeastern parts of the plain, SWL decreased between approximately 21 and 149 m and DWL decreased between approximately 35 and 193 m in the reference regions numbered 1, 2, and 3.

In Kızıltepe lands in the southwestern parts of the plain, SWL decreased between approximately 41 and 94 m and DWL between approximately 85 and 158 m in reference zones 4-5-6-7.

In Kızıltepe and Derik lands in the western parts of the plain, SWL decreased between approximately 28 and 74 m and DWL decreased between approximately 56 and 98 m in reference zones 8-9-10-11.

In Derik lands in the northwestern part of the plain, SWL decreased between approximately 49 and 61 m and DWL decreased between approximately 69 and 79 m in reference zones 12-13-14.

This indicates that the DWL has dropped by 95 m and the average subterranean SWL has dropped by roughly 62 m in the last 34 years in the area. The primary cause of this significant drop is the drilling of boreholes for irrigation.

The crops cultivated in the basin, mainly cotton and maize, require a large amount of water during the vegetation period (about 700-1500 mm), and since it is not possible to meet this water demand with the drought and low rainfall (average 58 mm) in the summer months, farmers intensively use these wells to obtain high yields. Wild irrigation techniques, which are gradually decreasing but still in use, disrupt the soil's structure, increase energy costs, and contribute to the excessive use of water.

Climate change is another factor. The region's precipitation regime is changing, with gradually decreasing snowfall being replaced by heavy rainfall in a short period of time. In this type of precipitation regime, rainwater cannot reach the lower layers of the soil and is lost through surface runoff. The average annual temperature, which was 15.5 °C in the 1940s, approached 17 °C in the 2020s, while the average annual precipitation, which was around 750 mm, fell below 600 mm. With increasing summer temperature averages, the rate of transpiration and evapotranspiration increases; thus, more and faster water is lost per unit time, and more frequent and more frequent irrigation is needed to replace this water that evaporates into the air.

One of the consequences of this decline in

groundwater levels is the drying up of natural spring waters in the more mountainous and hilly areas in the north of the region. Especially in the last 10 years, many natural springs have either dried up completely or dried up in the summer months, and the flow rate of the remaining waters has decreased considerably.

(Charoenpong et al., 2012), examined the accuracy of interpolation techniques (IDW, Kriging and Splines) in determining groundwater potential using borehole data drilled between 1995 and 2011 in Phuket province, Thailand and reported that the IDW method was more accurate than the other two. In the study conducted by (Anbazhagan & Jothibasu, 2016) in the Amaravati River Basin, Southeast India, geoinformatics effects were evaluated for mapping sustainable groundwater potential areas using electrical resistivity, linearity and geomorphology parameters at depths of 25, 50, 75 and 100 m. They stated that boreholes at depths below 75 m are not suitable for sustainable groundwater potential. In two separate studies conducted in Diyarbakır city center and Çınar District, borehole irrigation well data were classified in periods and analyzed with the Spatial Analyzed Kriging method, and a decrease of 10-84.5 m in the city center and 8-50 m in Çınar District was determined in the static water level at the determined reference points (Çelik, 2016; Çelik & Toprak, 2016). In two similar studies conducted in Şanlıurfa Harran Plain and Diyarbakır Silvan District, borehole data were interpolated by IDW method, and thematic maps showing static water level, dynamic water level and well yields were created by reclassify (Çelik et al., 2017; Çelik & Hamidi, 2018). In a study conducted in Amhara region, Ethiopia, groundwater potential areas were classified using remote sensing data and interpolation techniques (IDW), and as a result, 6.5% of the area was classified as very good, 22.1% as good, 51.2% as moderate, 18.4% as low and 1.8% as very low (Bagyaraj et al., 2013). Our findings parallel with those of the above studies.

## **Conclusions and Recommendations**

As a result, the proportion of the area classified as SWL shallow and normal decreased from 100% in Period-1 to 7.5% in Period-7, while the proportion of deep and very deep class, which was approximately 0.0% in Period-1, became 92.5%. While the ratio of shallow and normal class was 100% in DWL Period-1, it decreased to 0.2% in Period-7, and the ratio of 0% in deep and very deep class in Period-1 increased to 99.8% in Period-7. In terms of VA, while 100% of the well depths drilled in Period-1 were in the shallow and normal class, this rate decreased to 0.3% in Period-7, and the deep and very deep class rate increased to 99.7%.

In terms of groundwater potential, 13.2% of the area is classified as poor (39,078.4 ha), 44% as normal (130,372.3 ha), 36.2% as good (107,295.1 ha), 6.6% as very good (19,465.2 ha).

Underground SWL in the region decreased between 21-149 m (average 62 m), DWL between 35-193 m (average 95 m), and borehole irrigation well depths exceeded 300 meters.

The number of boreholes, which was approximately 500 until 2000, approached 10,000 as of 2019. Thus, irrigated agriculture opportunities have increased in the region, and the average yield of second crop agriculture and crops under culture has increased. This has led to more water use, and groundwater levels have decreased due to changes and irregularities in the precipitation regime, increase in average monthly temperatures, and decrease in precipitation. As the SWL and DWL declined over the years, the cost of drilling and using wells increased, requiring intensive use of energy and labor.

As a solution, as seen in this study, if the current crop cultivation techniques continue, the groundwater level will drop even further, and much greater costs will be required for its extraction and utilization. Therefore, the use of groundwater in such basins is very important and needs to be controlled and regulated. One of the biggest steps of the solution is to urgently complete the GAP and reduce irrigation from boreholes. Thus, the use of boreholes will decrease, water use energy and labor costs will decrease, which will lead to a decrease in overall

production costs.

The GAP Mardin irrigation canal project started in 2009 but has still not been finalized. Prolonged bureaucratic procedures, various disputes and ongoing lawsuits, mistakes in consolidation, uncertainties in the selection of canal and pond locations, etc. are among the reasons why the project has not been completed.

Within the scope of product support payments, the Ministry of Agriculture and Forestry has introduced some regulations such as reducing wild irrigation, encouraging pressurized irrigation, and 3-year alternation requirement in some crops, which has reduced the amount of water use to some extent. In addition to the continuation of such practices, it is very important to carry out educational activities to create awareness against over-irrigation as a society.

In addition, it is recommended that various demonstration studies be carried out to grow crops that are more compatible with the region and changing climatic conditions and that require less water, and that producers be trained and supported in the cultivation of such crops.

This study is expected to be an important resource in groundwater management and protection in terms of environmental and natural resources protection and sustainable agriculture and to guide future studies on this subject.

### **Declaration**

The author declares that there is no conflict of interest.

### **Author Contribution**

S.K.: Conceptualization, Methodology, Software, Validation, Formal analysis, Investigation, Resources, Data Curation, Writing - Original Draft, Writing - Review & Editing, Visualization, Supervision, Project administration

### **REFERENCES**

Anbazhagan, S., & Jothibas, A. (2016). Geoinformatics in groundwater potential mapping and sustainable development: A case study from southern India.

- Hydrological Sciences Journal*, 61(6), 1109–1123. <https://doi.org/10.1080/02626667.2014.990966>
- Anonymous. (2020). Yeraltı Suları Nasıl Oluşur? Suder. <https://suder.org.tr/ambalajli-su/yeralti-sulari-nasil-olusur/>
- Aslan, V. (2019). *Harran Ovası Yeraltı Suyu Potansiyeli Ve Kalitesinin Coğrafi Bilgi Sistemi Destekli Çok Kriterli Karar Verme Yöntemi İle Modellenmesi*. (Yayımlanmamış doktora tezi). Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır
- Bagyaraj, M., Ramkumar, T., Venkatramanan, S., & Gurugnanam, B. (2013). Application of remote sensing and GIS analysis for identifying groundwater potential zone in parts of Kodaikanal Taluk, South India. *Frontiers of Earth Science*, 7(1), 65–75. <https://doi.org/10.1007/s11707-012-0347-6>
- Bakiş, R., Bayazit, Y., & UyguçgİL, H. (2012). *SEYDİSUYU HAVZASINDAKİ YAĞIŞ, SICAKLIK VE BUHARLAŞMA DAĞILIMLARININ UZAKLIĞA BAĞLI TAHMİNLEME YÖNTEMLERİ İLE HARİTALANMASI*.
- Balamurugan, G., Seshan, K., & Bera, S. (2017). Frequency ratio model for groundwater potential mapping and its sustainable management in cold desert, India. *Journal of King Saud University - Science*, 29(3), 333–347. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2016.08.003>
- Çelik, R. (2016). Diyarbakır Çınar Tarımsal Alanlarının Yıllara Göre Yeraltı Suyu Seviye Haritalarının Coğrafi Bilgi Sistemi (CBS) İle Tespiti. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 7(2), Article 2.
- Sener, E., Davraz, A., & Ozcelik, M. (2005). An integration of GIS and remote sensing in groundwater investigations: A case study in Burdur, Turkey. *Hydrogeology Journal*, 13(5–6), 826–834. <https://doi.org/10.1007/s10040-004-0378-5>
- Çelik, R., Aslan, V., & Akyıldız, M. H. (2017). Harran Ovası'nın yeraltısuyu potansiyelinin coğrafi bilgi sistemi ile modellenmesi. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 8(1), 53–64.
- Çelik, R., & Hamidi, N. (2018). Ergani İlçesi Ovasının yeraltısuyu potansiyelinin Coğrafi Bilgi Sistemi ile belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 9(2), 999-1007.
- Çelik, R., & Hamidi, N. (2018). Silvan İlçesi Ovası yeraltı suyu potansiyeli ve tematik haritalarının Coğrafi Bilgi Sistemi ile belirlenmesi. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 9(2), 929–937.
- Çelik, R., & Toprak, Z. F. (2016). Küresel iklim Değişikliğinin Diyarbakır Kent Merkezi Yeraltı Suyu Seviyesine Etkisi. *Dicle Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Dergisi*, 7(2), 279–290.
- Charoenpong, S., Suwanprasit, C., & Thongchumnum, P. (2012). Impacts Of Interpolation Techniques On Groundwater Potential Modeling Using GIs In Phuket Province, Thailand. *In Proceeding the 33rd Asian Conference of Remote Sensing*, 1–7.
- Konuk, A. (2011). Coğrafi Bilgi Sistemleri İçin Temel İstatistik içinde (s. 168-172), Eskişehir, Anadolu Üniversitesi Yayınları
- Özbay, Ö., Yıldız, Dursun, & Kırmızıtaş, Hasan. (2011). *Görünmez Stratejik kaynak: Sınırtaşan Yeraltı Suları*. Ortadoğu Stratejik Araştırmalar Merkezi.



# Impact of stale bread utilization on the quality attributes of tarhana production

## Tarhana üretiminde bayat ekmek kullanımının ürün kalitesi üzerine etkileri

Tuğba GÜL DİKME<sup>1\*</sup>, Osman SAĞDIÇ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Harran University, Siverek Vocational School, Department of Food Technology Programme, Şanlıurfa, Turkey

<sup>2</sup>Yıldız Technical University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Istanbul, Turkey.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-2212-6443>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-2063-1462>

### To cite this article:

Gül Dikme, T. & Sağdıç, O. (2024). impact of stale bread utilization on the quality attributes of tarhana production. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(1): 659-672

DOI: 10.29050/harranziraat.1404072

### \*Address for Correspondence:

Tuğba GÜL DİKME

e-mail:

t.gul@harran.edu.tr

### Received Date:

12.12.2023

### Accepted Date:

04.11.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

The objective of this study was to utilize stale bread, of which 4.9 million pieces are wasted daily, in the production of fermented tarhana and to assess its impact on the physicochemical, microbiological, and sensory properties of the final product. Five different tarhana formulations were developed using breadcrumbs (25%, 50%, 75%, 100%) and wheat flour (100%) derived from stale bread in varying proportions. Tarhana produced with 32.74% wheat flour or breadcrumbs underwent comprehensive physicochemical, microbiological, and sensory analyses to evaluate the effects of these formulations. The study revealed no significant differences in pH, protein, fat, and moisture values among the tarhana samples ( $p>0.05$ ). Furthermore, the data analysis of TMAB, coliforms, *S. aureus*, lactic acid bacteria, yeasts, and moulds did not indicate any notable differences among the tarhana samples ( $p>0.05$ ). The *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* and *S. thermophilus* isolates were obtained as the results of this investigation. There was no significant disparity in the quality attributes of tarhana prepared from varying ratios of stale breadcrumbs or entirely from wheat flour. It implies that the physicochemical features of tarhana were not negatively impacted by stale breadcrumbs. The results show that incorporating  $\leq 25\%$  stale bread instead of solely wheat flour in the production of tarhana can be feasible. Additionally, tarhana possesses a high biological value attributed to the presence of lactic acid bacteria including *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* and *S. thermophilus* in samples. This presents an opportunity for incorporating stale or discarded bread into tarhana, thereby potentially increasing its economic value. Future investigations might also explore consumer acceptance and market potential for tarhana made with stale bread to assess its commercial viability. Lastly, expanding the microbiological analysis to include a broader spectrum of probiotic strains could enhance the understanding of tarhana's health benefits, thus contributing to its positioning as a functional food product.

**Key Words:** Tarhana, Stale Bread, Breadcrumbs, Lactic Acid Bacteria

### Öz

Bu araştırmanın amacı; günde 4,9 milyon israf edilen bayat ekmeğin fermente tarhana üretiminde kullanılması ve bayat ekmeğin tarhananın fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisinin belirlenmesidir. Bu çalışmada çeşitli oranlarda bayat ekmeklerden elde edilen galeta ununun (%25, %50, %75, %100) ve buğday unu (%100) kullanılarak beş farklı tarhana formülasyonu üretilmiştir. Çalışmada % 32,74 buğday unu ya da galeta unu ile yapılan tarhanalar kapsamlı fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal analizlere tabi tutulmuştur. Yapılan çalışma tarhana örnekleri arasında pH, protein, yağ ve nem değerleri açısından önemli bir fark olmadığını ortaya koymuştur ( $p>0.05$ ). Yapılan analizde TMAB, koliform, *S. aureus*, laktik asit bakterileri, mayalar ve küflerin veri analizi tarhana örnekleri arasında kayda değer bir farklılık göstermemiştir ( $p>0.05$ ). *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* ve *S. thermophilus* izolatları bu araştırmanın sonuçları olarak



elde edilmiştir. Farklı oranlarda bayat ekme kırıntılarından veya tamamen buğday unundan hazırlanan tarhanaların kalite özelliklerinde önemli bir farklılık görülmemiştir. Bu da tarhananın fizikokimyasal özelliklerinin bayat ekme kırıntılarından olumsuz etkilenmediğini göstermektedir. Sonuçlar tarhana üretiminde sadece buğday unu yerine  $\leq 25\%$  oranında bayat ekme kullanılmasının mümkün olabileceğini göstermektedir. Elde edilen tarhana *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* ve *S. thermophilus* dahil olmak üzere laktik asit bakterilerinin varlığına atfedilen yüksek bir biyolojik değere sahiptir. Bu durum bayat veya atılmış ekmeğin tarhanaya dahil edilmesi için bir fırsat sunmakta ve böylece potansiyel olarak ekonomik değerini artırmaktadır. Gelecekteki araştırmalar, bayat ekmele üretilen tarhananın tüketici kabulü ve pazar potansiyelini inceleyerek ticari uygulanabilirliğini değerlendirebilir. Ayrıca, mikrobiyolojik analizlerin kapsamının daha geniş bir probiyotik suş yelpazesini içerecek şekilde genişletilmesi, tarhananın sağlığa faydalarının daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunabilir ve böylece fonksiyonel bir gıda ürünü olarak konumlandırılmasını destekleyebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Tarhana, Bayat Ekme, Galeta Unu, Laktik Asit Bakterileri

## Introduction

Bread is not only a staple food but also a significant source of energy, protein, and essential minerals (Cappelli & Cini, 2021). With the global population steadily increasing and economic conditions shifting, the role of bread in the human diet continues to grow in importance. Per capita annual bread consumption varies significantly across countries, reflecting both cultural and dietary patterns. For instance, in Bulgaria, the average annual bread consumption per person is 95 kg, followed by Ukraine at 89 kg, Italy at 68 kg, Russia at 62 kg, France at 57 kg, Germany at 56 kg, and the United Kingdom at 32 kg (Yusufoğlu et al., 2021). In comparison, Turkey's per capita bread consumption stands at 104 kg, significantly higher than the global average. This elevated consumption underscores the central role of bread in the Turkish diet, highlighting its economic and nutritional significance within the country. Although bread plays a crucial role in global nutrition, it is also one of the most frequently wasted food products. Its affordability, versatility in culinary applications, and high satiety value contribute to its widespread consumption; however, these same attributes make it particularly susceptible to wastage (Kumar et al., 2023). In Turkey alone, it is estimated that approximately 4.9 million slices of bread are discarded on a daily basis (Yıldırım et al., 2016). Several factors contribute to this significant wastage, including inadequate storage practices, over-purchasing, the rapid staling of bread, serving bread in unsliced form, and the failure to repurpose or recycle stale bread for alternative uses (Dymchenko et al., 2023; Gökalp, 2020). The issue of bread waste is exacerbated by its short

shelf life and the tendency for consumers and retailers to discard bread that has lost its freshness. Various strategies have been explored to address this issue, with one of the most effective approaches being the conversion of stale bread into new food products, thereby reducing waste while simultaneously creating value-added products. This method not only mitigates the environmental and economic impacts of bread wastage but also offers opportunities for innovation in the food industry through the development of sustainable practices and the incorporation of waste reduction into food production processes.

Tarhana holds a significant position in the Turkish diet, recognized as a traditional fermented food product primarily made from cereal grains, and is commonly consumed across the Middle East, particularly in Turkey. In addition to its widespread consumption, tarhana is also produced on an industrial scale in Turkey, contributing to its accessibility. This nutrient-dense food, enriched with B vitamins, essential minerals, organic acids, and proteins due to its composition of cereal flours, yogurt, and various vegetables, serves as an important dietary element for both children and the elderly. Its nutritional profile, combined with its ease of preparation and extended shelf life, owing to its low water activity, has further bolstered its growing popularity (Tarakcı et al., 2004; Köse & Çağındı, 2002).

The composition of tarhana typically includes 60.9% carbohydrates, 16% protein, 10.2% moisture, 6.2% ash, 5.4% fat, 3.8% salt, and 1% crude fiber. Additionally, it is recognized as a rich source of bioavailable minerals, such as calcium

(109 mg/100 g), magnesium (78 mg/100 g), potassium (114 mg/100 g), and copper (450 mg/100 g). The fermentation process contributes to a significant increase in the bioavailability of these nutrients, as the rising acidity and phytase activity during fermentation degrade phytic acid, thereby enhancing the total mineral and protein content. The protein content of dried tarhana, when prepared with yogurt and inoculated with varying concentrations of probiotic cultures (ranging from 0.5% to 4.5%), has been reported to fluctuate between 18% and 20%. Furthermore, commercially produced tarhana has been identified as containing seven essential water-soluble vitamins, including ascorbic acid (vitamin C), niacin, pantothenic acid (vitamin B5), pyridoxine (vitamin B6), thiamine (vitamin B1), folic acid, and riboflavin (vitamin B2) (Gök, 2023).

In traditional formulations of tarhana, functional enhancements are often achieved through the incorporation of tomatoes, peppers, or their pastes. These ingredients are particularly valuable due to their biologically active compounds, such as lycopene, phenolic compounds, organic acids, and vitamins. Additionally, the inclusion of dietary fiber, pectin, oil, and protein derived from the pulp, seeds, and skin of these vegetables further augments the nutritional and functional properties of tarhana (Gök, 2023).

Tarhana is traditionally prepared by combining wheat flour, yogurt, bread yeast, onions, tomatoes, fresh red and green peppers, along with various spices. The preparation typically follows a 1:1 ratio of yogurt to flour, though variations in ingredient proportions may occur depending on regional preferences and specific formulations. Commonly added spices include mint, thyme, red chili flakes, chili powder, dill, and salt, which contribute to the distinctive flavor profile of tarhana. After mixing the ingredients, the tarhana dough is left to undergo a fermentation process that lasts between 1 to 7 days, depending on environmental conditions and desired fermentation levels. This fermentation enhances the sensory and nutritional properties of the final

product by promoting the development of organic acids and increasing the bioavailability of nutrients. Following fermentation, the dough is dried either by sun-drying or by using low-temperature ovens, a method that preserves the product's quality while minimizing nutrient degradation. Once dried, the tarhana is finely ground to achieve a particle size of less than 800 µm, making it suitable for culinary use. The low pH and reduced moisture content of the dried product contribute to its extended shelf life, allowing it to be stored for long periods without the risk of microbial spoilage or quality deterioration (Değirmencioglu et al., 2005; Kilci & Göçmen, 2014). This characteristic, combined with its ease of preparation and high nutritional value, solidifies tarhana's importance as a staple food in many households.

The objective of this study was to ascertain the quality attributes of the product obtained by incorporating flour from stale bread into tarhana mixture at specific ratios, to demonstrate the feasibility of utilising stale bread in tarhana and to identify the impact of stale bread on the physicochemical, microbiological, and sensory characteristics of tarhana. It is further emphasized that the incorporation of stale bread will not only offer nutritional and technological benefits but also generate social and economic value by reducing bread waste. Mitigating bread waste is crucial for ensuring food security, and the repurposing of stale bread will foster an economically sustainable production model. Such initiatives represent a significant step towards enhancing public awareness and minimizing waste, while simultaneously contributing to the economy.

## Material and Method

### Material

White wheat flour (from Ülker Bizim, İstanbul, Turkey), stale bread, yoghurt (from Pınar, İzmir, Turkey), tomato paste (from Tat Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.), green pepper, onion, mint, thyme and salt were used as ingredients to prepare the

tarhana. All the ingredients were purchased from a local supermarket in Kayseri. The newly purchased bread was stored in bags under ambient conditions for two days to facilitate staling. After the two-day period, the stale bread was sliced and baked for 25 min at 100 C for drying. The dehydrated bread was then ground into fine breadcrumbs using a grinder.

#### Grouping of Tarhanas

The tarhana samples were categorized based on the proportion of wheat flour and/or stale breadcrumb mixtures used in their formulation. Group (A) consisted exclusively of wheat flour, whereas group (B) incorporated 25% breadcrumbs with wheat flour, group (C) included a 50% mixture of breadcrumbs and wheat flour, group (D)

contained 75% breadcrumbs with wheat flour, and group (E) was composed entirely of breadcrumbs without any wheat flour. Overall, the combined wheat flour and breadcrumb mixtures accounted for 32.74% of the total tarhana formulation.

#### Preparation of tarhana dough and powder

The method outlined by Temiz and Pirkul (1990) was employed for the preparation of tarhana. Initially, a uniform mixture was created by blending all specified ingredients namely tomato puree, diced onion, green pepper, mint, thyme, salt, and water using a blender, as detailed in Table 1. This mixture was heated over medium flame for 10 minutes. After cooling, it was combined with yogurt and thoroughly kneaded.

Table 1. Formulation and grouping of tarhana

Ingredient (g)	Sample Groups				
	A	B	C	D	E
Wheat flour	32.74	24.55	16.37	8.19	0
Stale breadcrumbs	0	8.19	16.37	24.55	32.74
Yogurt	32,74	32,74	32,74	32,74	32,74
Tomato paste	16,37	16,37	16,37	16,37	16,37
Onion	7,86	7,86	7,86	7,86	7,86
Green pepper	6,55	6,55	6,55	6,55	6,55
Salt	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Water	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Oregano	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94
Mint	0,94	0,94	0,94	0,94	0,94

A: %100 wheat flour; B: %75 wheat flour+%25 breadcrumbs; C: %25 wheat flour+%75 breadcrumbs; D: %50 wheat flour+%50 breadcrumbs; E: %100 breadcrumbs

Subsequently, the mixture was divided into five separate containers. In accordance with the proportions provided in Table 1, wheat flour and/or stale breadcrumbs were added to each container and the mixtures were kneaded once more. The tarhana mixtures were then allowed to ferment at a constant temperature of 30°C for 5 days, with manual mixing performed every 12 hours throughout the fermentation period.

Following fermentation, the mixtures were dried in an incubator (Nüve KD-200, Kayseri, Turkey) at 50°C for 24 hours. The dried tarhana was then ground (IKA M 20 Universal Grinder), to a particle size of 500 µm. Finally, the tarhana samples were stored in polyethylene bags and kept in a refrigerator until required for analysis. Traditional tarhana production is given in Figure 1.

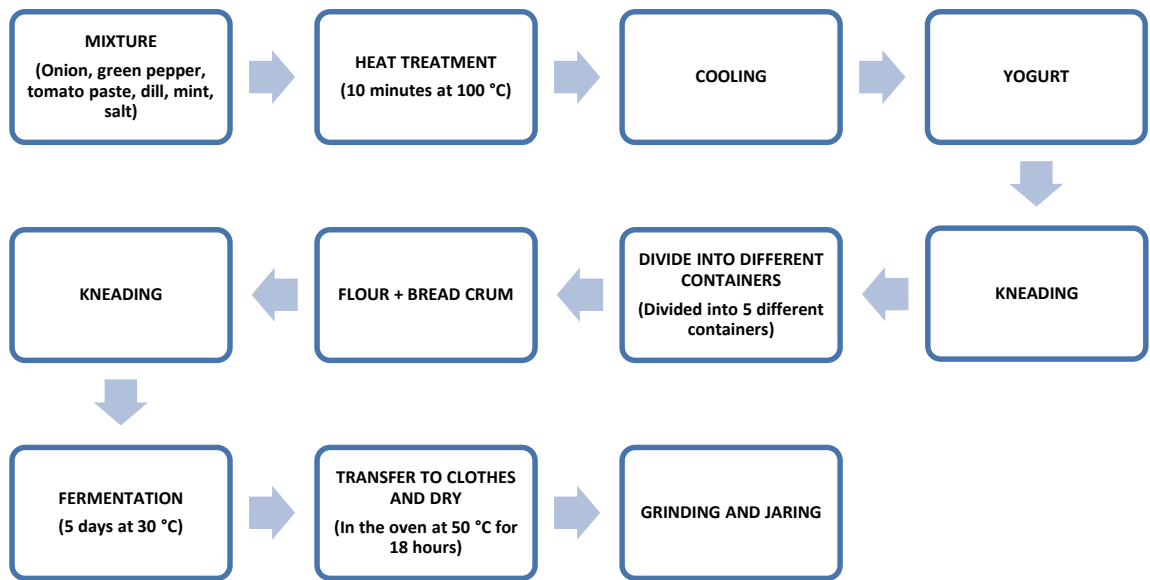


Figure 1. Flow chart of tarhana samples produced

### Chemical composition

On the 1st, 3rd and 5th day of fermentation, pH and acidity analyses were carried out on tarhana dough samples. pH, water activity, acidity, moisture, ash, protein and fat analyses were carried out on tarhana powder samples. On the other hand, water activity, moisture and ash were determined in stale breadcrumbs. Moisture, ash, protein and fat were assessed according to the methods proposed by the American Association of Cereal Chemists (AACC 2000). pH was determined using a pH meter (Hanna Instruments 211) after mixing a 5 g sample with 100 ml distilled water. The acidity degree (as lactic acid) was determined by the Tarhana Standard (TS 2282) of Turkish Standards Institute (Anonymous, 1981). The water activity value of the samples was determined using a water activity meter (LabTouch, Novasina, Switzerland) with a precision of  $\pm 0.001$ . After 3-4 g of sample was quickly placed into the stainless steel chamber of the device, the water activity value was read directly from the display of the device and recorded.

### Color measurements

Colour analyses of the tarhana dough and powder tarhana samples utilized in production were conducted via a colorimeter (Minolta CR-400, Osaka, Japan) with measurements of  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  values (Akarca et al., 2015).

### Microbiological analysis

After homogenized with a stomacher, 10 g sample from tarhana dough (fermentation days 1, 3 and 5) and powder tarhana diluted and decimal dilutions were conducted in sterile physiological solution (90 mL). For the quantification of mesophilic aerobic bacteria, samples were incubated for  $48 \pm 3$  hours at  $30 \pm 1$  °C on Plate Count Agar (Merck); for the quantification of lactic acid bacteria, samples were incubated for  $48 \pm 72$  hours at  $30 \pm 1$  °C on MRS (Man Rogosa Sharpe); for the quantification of yeasts and moulds, samples were incubated for 3 to 5 days at 25 °C on Potato Dextrose Agar (PDA); for the quantification of coliform bacteria, samples were incubated for 24 to 48 hours at 37 °C in tubes containing Mac Conkey broth; for the determination of the presence of *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) were cultured for 24-48 hours at 37°C on Baird Parker (Merck) medium supplemented with egg-yolk tellurite emulsion (Merck). After incubation, the number of bacteria, yeasts and moulds present in a 1 g sample was determined. Counts were carried out in duplicate and the results were expressed as  $\log_{10}$  cfu/g (Stringini et al., 2009).

### Isolation of Lactic Acid Bacteria (LAB)

In the process of isolating LAB from tarhana samples, MRS (Merck) and M17 agar (Merck) were used as culture media. Cycloheximide (actidione) with a concentration of 10 ppm was supplemented

to the media to hinder the growth of yeast and moulds during the weighing process. After dilution, 0.1 ml of the samples were pipetted into petri dishes containing MRS and M17 agar and thereafter were incubated for 72 hours at a temperature of 30 °C. At the end of incubation, countable colonies were identified, marked and segregated. Two or three colonials were categorized accordingly. After ensuring their growth in MRS (Merck) and M17 broth (Merck) media, the selected colonies were purified through streaking on agar medium again (Sawadogo-Lingani et al., 2007).

#### *Identification of LAB isolates*

The morphological features, gram reactions (under the microscope), catalase activities of the bacterial isolates were checked. Then their initial classifications were established. API 50 CHL LAB identification kits (Biomerieux, France) were used to determine the carbohydrate utilization characteristics of gram positive and catalase negative isolates (Sawadogo-Lingani et al., 2007).

#### *Sensory evaluation*

A sensory evaluation was conducted on five different tarhana soup samples prepared using tap water at a low temperature (approximately 60°C). No additives were used in order to avoid masking any inherent flavors or aromas. Panelists were asked to assess all tarhana soup samples based on several sensory attributes, including color, consistency, aroma, off-flavors, and overall acceptability. The evaluation was carried out by a panel of 10 individuals, aged between 20 and 25,

from the Department of Food Engineering at Erciyes University. The students were told about the properties of the soup and asked to compare it with the tarhana soup they would like to drink in daily life. The panelists rated the samples using a 9-point hedonic scale, where 1 indicated "dislike extremely," 5 represented "neither like nor dislike," and 9 signified "like extremely" (Akarca et al., 2015; Bilgiçli, 2009). This approach allowed for a detailed assessment of the sensory properties of the tarhana soups across a range of key quality parameters.

#### *Statistical analysis*

Statistical analysis of the results was performed using SPSS V 21.0.0 statistical package software (IBM, New York, USA). The physicochemical, microbiological, and sensory properties of various samples were analysed using single factor analysis of variance. The difference between fermentation days was determined using the Tukey multiple comparison method. The data obtained from the study were tested with one-way analysis of variance (ANOVA) methods to test the significant differences between the samples, and the level of significance was set as  $p < 0.05$ .

## **Results and Discussion**

#### *Analytical results of tarhana dough samples*

The analysis of the acidity, pH, and colour measurements of tarhana dough samples are detailed in Table 2.

Table 2. pH, titratable acidity and colour measurement of the tarhana samples.

Chemical parameters	Fermentation days	Samples				
		A	B	C	D	E
pH	1	4,10 <sup>Ac</sup> ±0,01	4,07 <sup>BAb</sup> ±0,00	4,03 <sup>Bb</sup> ±0,02	4,05 <sup>BAb</sup> ±0,05	4,07 <sup>BAC</sup> ±0,01
	3	4,18 <sup>Ab</sup> ±0,04	4,15 <sup>Ab</sup> ±0,05	4,30 <sup>Aa</sup> ±0,10	4,19 <sup>Aa</sup> ±0,01	4,15 <sup>Ab</sup> ±0,05
	5	4,27 <sup>CBA</sup> ±0,01	4,28 <sup>Ba</sup> ±0,02	4,22 <sup>Da</sup> ±0,00	4,23 <sup>CDa</sup> ±0,02	4,34 <sup>Aa</sup> ±0,01
Acidity degree (%)	1	5,50 <sup>Ba</sup> ±0,50	7,25 <sup>BAA</sup> ±0,25	7,50 <sup>Ab</sup> ±1,00	6,50 <sup>BAA</sup> ±1,00	5,50 <sup>Bb</sup> ±0,00
	3	3,25 <sup>Cb</sup> ±0,38	3,50 <sup>Cb</sup> ±0,90	10,50 <sup>Aa</sup> ±1,00	4,25 <sup>Cb</sup> ±0,75	7,75 <sup>Ba</sup> ±0,25
	5	4,00 <sup>BABA</sup> ±1,00	2,75 <sup>Bb</sup> ±0,25	5,00 <sup>BAb</sup> ±1,00	4,75 <sup>BABA</sup> ±0,25	5,50 <sup>Ab</sup> ±1,50
L*	1	51,992 <sup>Aa</sup> ±0,87	44,86 <sup>Ba</sup> ±0,71	44,25 <sup>Ba</sup> ±0,18	40,73 <sup>Cb</sup> ±0,63	37,93 <sup>Aa</sup> ±0,67
	3	42,76 <sup>Ac</sup> ±1,13	40,87 <sup>Ac</sup> ±1,32	38,11 <sup>Ac</sup> ±1,21	37,02 <sup>Ac</sup> ±1,42	35,66 <sup>Ac</sup> ±1,02
	5	40,73 <sup>BAb</sup> ±1,84	39,13 <sup>BAb</sup> ±1,12	36,05 <sup>BAb</sup> ±1,47	34,73 <sup>BAb</sup> ±1,65	32,73 <sup>BAb</sup> ±1,84
a*	1	19,9 <sup>Ba</sup> ±0,84	17,7 <sup>Ba</sup> ±0,4	16,9 <sup>Ba</sup> ±0,28	15,9 <sup>Ba</sup> ±0,21	14,1 <sup>Ba</sup> ±0,41
	3	20,4 <sup>Aa</sup> ±1,09	18,8 <sup>Aa</sup> ±1,05	17,4 <sup>Aa</sup> ±1,11	16,2 <sup>Aa</sup> ±0,89	15,02 <sup>Aa</sup> ±1,09
	5	21,5 <sup>Aa</sup> ±1,19	20,5 <sup>Aa</sup> ±1,14	19,4 <sup>Aa</sup> ±0,15	18,5 <sup>Aa</sup> ±1,17	18,3 <sup>Aa</sup> ±0,08
b*	1	33,77 <sup>Aa</sup> ±0,42	30,18 <sup>Aa</sup> ±0,22	28,67 <sup>Aa</sup> ±0,69	27,17 <sup>Aa</sup> ±0,85	25,22 <sup>Aa</sup> ±0,11
	3	25,82 <sup>Bb</sup> ±2,29	22,12 <sup>Bb</sup> ±2,65	21,58 <sup>Bb</sup> ±1,78	20,42 <sup>Bb</sup> ±1,12	19,89 <sup>Bb</sup> ±2,25
	5	22,37 <sup>Bc</sup> ±1,02	20,65 <sup>Bc</sup> ±1,41	20,37 <sup>Bc</sup> ±1,25	19,14 <sup>Bc</sup> ±1,14	17,87 <sup>Bc</sup> ±1,05

A-D: Capital letters in the same row are the comparison of tarhana varieties. The same letters indicate that there is no statistical difference between the samples ( $p>0.05$ ).

a-c: Small letters in the same column are the comparison of fermentation times. The same letters indicate that there is no statistical difference between the samples ( $p>0.05$ )

The pH measurements of the samples ranged from 4.03 to 4.34, with the E tarhana sample exhibiting the highest pH value (4.34). This may be attributed to the comparatively lower fermentable sugar content in stale breadcrumbs relative to wheat flour, which likely resulted in reduced acid production during fermentation. This observation is consistent with the findings of Kılıç Keskin et al. (2022), who reported a pH value of 4.28 for wheat flour-based tarhana. Such differences in pH are often associated with variations in the carbohydrate composition of the raw materials utilized in fermentation.

The observed increase in pH values during tarhana fermentation may be attributed to the higher proportion of stale breadcrumbs used. Similar findings were reported by Cankurtaran Kömürcü and Bilgiçli (2022), who demonstrated that tarhana dough made with 100% maize flour had an initial pH of 5.65, which was higher than that of traditional wheat-based tarhana. This suggests that non-wheat flours or modified flour compositions, such as those incorporating ancient grains or alternative sources like maize, can have a significant impact on the fermentation process and the final characteristics of the product. The use of stale breadcrumbs likely follows a similar trend, where the altered carbohydrate composition leads

to a slower fermentation rate, thereby reducing the overall decline in pH over time.

Bozkurt and Gürbüz (2008) supported these findings by reporting that the final pH values of tarhana products generally ranged from 3.3 to 5.0, depending on the fermentation conditions and the raw materials used. This range underscores the variability in tarhana fermentation, which can be influenced by factors such as fermentation duration, the type of starter culture, and the use of different flours or carbohydrate sources. In a study on tarhana made with rice and corn bran, Aktaş and Akin (2020) observed that as the proportion of bran increased, the pH values decreased, reinforcing the idea that fiber-rich ingredients tend to enhance acid production during fermentation.

In addition to these findings, research on the role of various carbohydrate substrates in fermented products further supports the hypothesis that sugar availability plays a crucial role in pH regulation. For example, Gökmen et al. (2021) showed that fermentation using ingredients with lower fermentable sugar content leads to less acidic final products, as a result of reduced lactic acid production. This highlights the importance of ingredient selection in determining the physicochemical properties of fermented foods like tarhana.

Color is a fundamental sensory characteristic that plays a critical role in shaping consumer purchasing behavior, often serving as a key determinant of product appeal and quality perception (Akan and Özdeştan, 2019). As detailed in Table 2, both the duration of fermentation and the specific composition of the tarhana samples exerted a notable influence on the L\*, a\*, and b\* color parameters, which are commonly used to quantify lightness, red-green, and blue-yellow values, respectively. The results indicate that the effect of tarhana composition on color was statistically significant when analyzed across identical fermentation times ( $p < 0.05$ ), underscoring the importance of ingredient variation in product aesthetics. Sample A exhibited the highest L\*, a\*, and b\* values, suggesting that this formulation maintained superior brightness and vividness of color. This could potentially

enhance its marketability, as consumers often associate brighter, more vibrant colors with freshness and quality. Conversely, an increase in the proportion of stale bread crumbs in the tarhana mixture led to a marked decrease in L\* values, contributing to a darker, more brownish appearance. This change in color could negatively affect consumer perception, as darker hues in food products are sometimes linked with staleness.

These findings suggest that managing the ratio of ingredients, such as stale bread crumbs, in tarhana production is crucial not only for maintaining the desired sensory attributes but also for optimizing consumer appeal.

#### *Analytical results of powder tarhana samples*

Some physicochemical properties and colour values of powdered tarhana samples are presented in Table 3.

Table 3. Chemical composition and color values of powder tarhana samples.

	Samples				
	A	B	C	D	E
pH	4,24 <sup>c</sup> ±0,01	4,36 <sup>a</sup> ±0,01	4,29 <sup>bac</sup> ±0,03	4,34 <sup>ba</sup> ±0,04	4,28 <sup>bc</sup> ±0,04
Acidity (%LA)	5,75 <sup>b</sup> ±0,25	4,25 <sup>c</sup> ±0,75	8,00 <sup>a</sup> ±0,50	6,50 <sup>b</sup> ±0,50	5,50 <sup>cb</sup> ±0,00
Protein (%)	11,46 <sup>c</sup> ±0,02	11,70 <sup>b</sup> ±0,03	11,18 <sup>d</sup> ±0,02	11,68 <sup>b</sup> ±0,04	12,02 <sup>a</sup> ±0,05
Fat (%)	5,75 <sup>a</sup> ±0,95	4,48 <sup>a</sup> ±0,42	4,35 <sup>a</sup> ±0,04	4,65 <sup>a</sup> ±0,23	4,36 <sup>a</sup> ±1,00
Ash (%)	4,48 <sup>d</sup> ±0,06	5,51 <sup>b</sup> ±0,02	5,15 <sup>c</sup> ±0,08	6,04 <sup>a</sup> ±0,01	6,09 <sup>a</sup> ±0,02
Moisture (%)	9,48 <sup>a</sup> ±0,16	9,22 <sup>ba</sup> ±0,04	9,24 <sup>a</sup> ±0,07	9,22 <sup>ba</sup> ±0,11	8,97 <sup>b</sup> ±0,09
Water Activity (a <sub>w</sub> )	0,55 <sup>a</sup> ±0,01	0,53 <sup>b</sup> ±0,01	0,49 <sup>c</sup> ±0,01	0,46 <sup>d</sup> ±0,01	0,45 <sup>d</sup> ±0,00
L*	59,22 <sup>a</sup> ±0,48	55,98 <sup>b</sup> ±0,64	48,71 <sup>c</sup> ±0,44	44,03 <sup>d</sup> ±1,21	44,71 <sup>d</sup> ±0,74
a*	20,7 <sup>a</sup> ±0,19	19,4 <sup>c</sup> ±0,48	20,5 <sup>ba</sup> ±0,59	19,7 <sup>bc</sup> ±0,81	20,0 <sup>bac</sup> ±0,34
b*	35,21 <sup>a</sup> ±0,42	35,29 <sup>a</sup> ±0,54	34,47 <sup>a</sup> ±0,96	29,71 <sup>b</sup> ±1,07	34,43 <sup>a</sup> ±0,80

a-d: Small letters in the same row are the comparison of powdered tarhana varieties.

The same letters indicate that there is no statistical difference between the samples ( $p > 0,05$ ).

The statistical results indicate that pH, acidity, ash, protein, moisture and water activity of the powdered tarhana samples were found to be statistically significant ( $p < 0.05$ ), whereas fat values were insignificant ( $p > 0.05$ ). The findings also suggest that the chemical properties of the tarhana samples were not negatively impacted by stale breadcrumbs.

The moisture content of powdered tarhana, produced with varying proportions of stale breadcrumbs, ranged from 8.97% to 9.48%. These values align with the standards set by the Turkish Standards Institute, which stipulates that the moisture content of powdered tarhana should not

exceed 10% (TSE No: 2282, 2004). The reduction in moisture content with the inclusion of stale breadcrumbs is a significant observation. As the proportion of stale breadcrumbs increased, there was a corresponding decline in the moisture content of the tarhana samples, with the most pronounced reduction observed when stale breadcrumbs constituted 100% of the formulation.

This decrease in moisture content can be attributed to the reduced water-holding capacity of stale bread compared to fresh bread or other traditional tarhana ingredients. Stale bread, having undergone partial dehydration over time, inherently contains less moisture, which is

reflected in the overall lower moisture levels of the final tarhana product. This phenomenon is critical for the shelf stability of tarhana, as lower moisture content is generally associated with extended shelf life and reduced microbial activity, thus enhancing product preservation.

The results of this study are consistent with prior research on tarhana formulations, which similarly reported a decline in moisture content when stale breadcrumbs or other dehydrated components were used (Cankurtaran Kömürcü and Bilgiçli, 2022; Aktaş and Akın, 2020). These findings support the notion that ingredient selection, particularly the use of stale bread, plays a crucial role in determining the physical properties of tarhana, specifically its moisture content.

In the present study, the protein content of powdered tarhana samples ranged from 11.18% to 12.08%. These values are comparatively lower than those reported by Kılıç Keskin et al. (2022), who documented protein levels ranging from 16.46% to 31.90% in tarhana produced using cereal and legume flours. The notable difference in protein content can be largely attributed to the use of legume flours, which are recognized for their significantly higher protein concentrations compared to cereal flours. As highlighted in the literature, legume flours, such as chickpea or lentil flour, are rich sources of protein, thus contributing to elevated protein levels in food products incorporating these ingredients (Binou et al., 2020). This suggests that the specific type of flour utilized in tarhana formulation plays a decisive role in determining its overall protein content.

Furthermore, Cankurtaran Kömürcü and Bilgiçli (2022) investigated the protein content of tarhana samples made with ancient wheat flours and found values between 13.05% and 14.95%. These findings highlight the influence of wheat type on the nutritional profile of tarhana, as ancient wheat varieties have been shown to possess higher protein and ash content compared to modern wheat (Hammed and Simsek, 2014). The elevated protein content in ancient wheat is often linked to its genetic composition and lower levels of

refinement, which may preserve more of its nutritional integrity.

The powdered tarhana samples obtained in our study had a varying total ash content ranging between 4.48% to 6.09%. Table 3 depicts that the mean ash content of powdered tarhana samples made from stale bread crumbs was higher compared to that of all wheat flour tarhanas. The inclusion of stale breadcrumbs resulted in a significant rise of ash content in powdered tarhana. Kılıç Keskin et al. also found similar findings (Kılıç Keskin et al., 2022).

In the tarhana sample made with 100% wheat flour, the ash content was determined to be 4.48%. An increase in ash content was observed across all tarhana samples as the proportion of stale breadcrumbs increased. The highest ash content was recorded in Sample E, with a value of 6.09%. This increase can be attributed to the fact that the ash content of stale breadcrumbs is higher than that of wheat flour. Similarly, Akan and Özdestan-Ocak (2019) reported an increase in dry matter and ash content with the increasing addition of grape seed extract, while Erol and Özdestan Ocak (2020) documented a decrease in dry matter content and an increase in ash content. Likewise, Aktaş and Akın (2020) examined the effect of corn flour substitution on tarhana quality and found that as corn flour substitution increased, dry matter content decreased while ash content increased.

Additionally, the dry matter and ash contents of homemade or commercially produced tarhana are consistent with the findings of this study, ranging between 82.99% to 92.06% for dry matter and 1.03% to 8.79% for ash content (Bilgiçli, 2009; Erol and Özdestan Ocak, 2020). These similarities indicate that the variations in dry matter and ash content observed in this study align with the typical composition of tarhana across different production methods.

The fat content of the powdered tarhana samples in our study ranged from 4.35% to 5.75%. Statistical analysis revealed that the inclusion of stale breadcrumbs did not exert a significant effect on the fat content of the tarhana samples ( $p>0.05$ ),



indicating that the fat composition remained relatively stable despite variations in the formulation. This stability in fat content can likely be attributed to the fact that stale bread, typically composed of carbohydrates and minimal fat, does not substantially alter the lipid profile of the final product when used in place of wheat flour.

Our findings are consistent with those of previous studies. For instance, Cankurtaran Kömürcü and Bilgiçli (2022) similarly reported no significant changes in fat content when alternative ingredients were incorporated into tarhana formulations. Likewise, Aktaş and Akin (2020) observed minimal variation in fat content when evaluating the effect of different flour substitutions on tarhana quality. These studies reinforce the notion that the fat content of tarhana is largely influenced by its core ingredients, such as dairy products or oils, rather than the carbohydrate-based components like bread or flour.

The color attributes of the powdered tarhana samples, as measured by L\*, a\*, and b\* values, ranged from 44.03 to 59.22 for L\*, 19.4 to 20.7 for a\*, and 29.71 to 35.29 for b\*. These results indicate a notable variation in the color profiles of the tarhana samples, with a discernible difference between those made with stale breadcrumbs and those made with wheat flour. Specifically, tarhana formulations incorporating stale breadcrumbs

exhibited lower average values for L\*, a\*, and b\*, suggesting a darker and less vibrant color compared to tarhana made solely from wheat flour (see Table 3).

In particular, Group A tarhana displayed higher L\* (lightness) and a\* (red-green) values, which implies a lighter and more reddish hue. Conversely, Group B tarhana, while also exhibiting a higher b\* (yellow-blue) value than other groups, had a color profile similar to Group A but with greater b\* values. This phenomenon can be attributed to the inherent darker color of stale breadcrumbs compared to wheat flour, which affects the overall color characteristics of the tarhana product.

The observed variations in color measurements are consistent with findings from Gularte et al. (2011), who noted that the color of flour components significantly influences the final color of food products. The presence of darker ingredients, such as stale breadcrumbs, directly impacts the lightness and color intensity of the tarhana, reflecting the sensory characteristics that consumers may perceive.

#### *Microbiological counts of tarhana doughs and powder tarhanas*

Microbiological analysis findings for tarhana dough and powdered tarhana are provided in Table 4 and Table 5.

Table 4. Microbiological Analysis Results of Dough Tarhana Samples (microbial number log CFU/g)\* (Results of total mesophilic aerobic bacteria (TMAB), coliform, *S.aureus*, lactic acid bacteria, yeast and mold analyzes in samples)

Microorganism Type	Fermentation days	Samples				
		A	B	C	D	E
TMAB	1	6,09 <sup>Aa</sup> ±0,10	5,17 <sup>Ba</sup> ±0,00	5,95 <sup>Aa</sup> ±0,08	5,96 <sup>Aa</sup> ±0,06	4,69 <sup>Cb</sup> ±0,00
	3	4,69 <sup>Cc</sup> ±0,00	4,58 <sup>Cb</sup> ±0,13	5,11 <sup>Bca</sup> ±0,48	5,52 <sup>BAb</sup> ±0,07	5,93 <sup>Aa</sup> ±0,08
	5	5,46 <sup>BACb</sup> ±0,08	5,00 <sup>Cba</sup> ±0,31	5,18 <sup>Bca</sup> ±0,36	5,70 <sup>BAb</sup> ±0,04	5,94 <sup>Aa</sup> ±0,10
Yeast	1	3,63 <sup>Ab</sup> ±0,67	3,03 <sup>Ab</sup> ±0,19	3,63 <sup>Ab</sup> ±0,67	3,03 <sup>Ab</sup> ±0,19	4,19 <sup>Ab</sup> ±0,11
	3	3,29 <sup>Ab</sup> ±0,30	3,47 <sup>Ab</sup> ±0,36	4,06 <sup>Ab</sup> ±0,30	4,00 <sup>Ab</sup> ±0,17	4,22 <sup>Ab</sup> ±0,02
	5	5,06 <sup>Aa</sup> ±0,03	6,06 <sup>Aa</sup> ±0,30	6,06 <sup>Aa</sup> ±0,30	5,73 <sup>Aa</sup> ±0,76	5,86 <sup>Aa</sup> ±0,61
Mold	1	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
	3	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
	5	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
Coliform	1	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
	3	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
	5	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
<i>S. aureus</i>	1	<1 <sup>Ba</sup>	<1 <sup>Ba</sup>	2,59 <sup>Aa</sup> ±0,15	2,69 <sup>Aa</sup> ±0,06	<1 <sup>Ba</sup>
	3	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Ab</sup>	<1 <sup>Ab</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
	5	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Aa</sup>	<1 <sup>Ab</sup>	<1 <sup>Ab</sup>	<1 <sup>Aa</sup>
MRS	1	7,48 <sup>Aa</sup> ±0,05	7,54 <sup>Aa</sup> ±0,03	7,11 <sup>Ba</sup> ±0,06	7,53 <sup>Aa</sup> ±0,02	7,46 <sup>Aa</sup> ±0,02
	3	6,44 <sup>Ab</sup> ±0,08	6,48 <sup>Ab</sup> ±0,02	6,05 <sup>Bc</sup> ±0,03	6,01 <sup>Bc</sup> ±0,01	5,24 <sup>Cc</sup> ±0,10
	5	6,07 <sup>Cc</sup> ±0,06	5,74 <sup>Dc</sup> ±0,03	6,44 <sup>Ab</sup> ±0,01	6,18 <sup>CBb</sup> ±0,01	6,29 <sup>Bb</sup> ±0,01
M17	1	6,19 <sup>Aa</sup> ±0,27	4,96 <sup>Bc</sup> ±0,02	4,93 <sup>Bc</sup> ±0,08	7,06 <sup>Aa</sup> ±0,25	4,58 <sup>Bb</sup> ±0,07
	3	6,54 <sup>Aa</sup> ±0,01	6,39 <sup>Bb</sup> ±0,02	6,42 <sup>Ba</sup> ±0,03	6,30 <sup>Ca</sup> ±0,01	6,27 <sup>Ca</sup> ±0,00
	5	6,38 <sup>BAa</sup> ±0,01	6,56 <sup>Aa</sup> ±0,01	5,65 <sup>Cb</sup> ±0,02	5,95 <sup>Bca</sup> ±0,21	6,30 <sup>BAa</sup> ±0,01

\*: mean ± standard deviation.

A-D: Capital letters in the same row are the comparison of tarhana varieties. The same letters indicate that there is no statistical difference between the samples (p>0.05).

a-c: Small letters in the same column are the comparison of fermentation times. The same letters indicate that there is no statistical difference between the samples (p>0.05).

Table 5. Microbiological Properties of Powder Tarhana Samples (Microbial number: log CFU/g)\*

Samples	TMAB	Yeast	Mold	<i>S. aureus</i>	Coliform	Lactic Acid	
						MRS agar	M17 agar
A <sub>P</sub>	4,08 <sup>c</sup> ±0,26	3,00 <sup>b</sup> ±0,17	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	5,86 <sup>bc</sup> ±0,02	4,60 <sup>a</sup> ±0,06
B <sub>P</sub>	4,69 <sup>b</sup> ±0,00	3,90 <sup>a</sup> ±0,15	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	5,60 <sup>d</sup> ±0,05	3,77 <sup>c</sup> ±0,01
C <sub>P</sub>	4,69 <sup>b</sup> ±0,00	3,86 <sup>a</sup> ±0,09	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	5,99 <sup>ba</sup> ±0,01	4,37 <sup>b</sup> ±0,04
D <sub>P</sub>	5,74 <sup>a</sup> ±0,03	3,90 <sup>a</sup> ±0,31	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	5,83 <sup>c</sup> ±0,03	3,32 <sup>b</sup> ±0,04
E <sub>P</sub>	4,65 <sup>b</sup> ±0,08	4,22 <sup>a</sup> ±0,07	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	6,11 <sup>a</sup> ±0,02	4,57 <sup>a</sup> ±0,04

\*: mean ± standard deviation

a-d: Small letters in the same row are comparison tarhana samples. The same letters indicate that there is no statistical difference between the samples (p>0.05).

The total counts of bacteria, yeast and lactic acid bacteria in tarhana dough samples on the 1st, 3rd and 5th day of fermentation were found to be in accordance with the standards in all samples. TMAB loads varied between 4.08 and 6.09 log CFU/g in all tarhana samples, including fermentation. There was no presence of coliforms or mold growth in any of the samples. All samples showed yeast detection between 3.00 and 6.06 log CFU/g. Yeast counts increased during fermentation in all samples of tarhana dough (p<0.05). Only 2 samples contained *S. aureus*.

Furthermore, *S. aureus* did not develop in the later stages of fermentation nor in the powdered samples. These findings are in line with previous research on the fermentation of tarhana dough samples (Tasdelen and Şimşek 2021).

Upon examining the tarhana samples, it was observed that the progression of the fermentation process led to an increase in pH levels. This phenomenon may be attributed to the consumption or neutralization of acidic compounds produced during fermentation (Özdemir et al., 2018). Notably, the increase in pH

became more pronounced with the higher proportion of stale bread used in the tarhana formulation, suggesting that buffering compounds present in the bread influenced the fermentation environment by reducing acidity and consequently raising the pH.

The observed overall decrease in acidity further supports this hypothesis. Organic acids such as lactic acid, which are primarily responsible for increasing acidity during fermentation, are produced in significant amounts. However, as fermentation progresses and the drying process takes place, a portion of these acids either dissipates or becomes inactive, leading to a reduction in acidity (Şimşek et al., 2017). The more pronounced decrease in acidity with the increasing proportion of stale bread crumbs suggests that the components of the bread may inhibit or slow down acid production during fermentation.

The reduction in lactic acid bacteria (LAB) can be directly linked to the progression of fermentation and the drying process. Although LAB play a crucial role during fermentation, their survival rates decrease due to the high temperatures and low humidity conditions during drying. The decline in LAB populations observed after the tarhana is transformed into powder form indicates the bacteria's sensitivity to the drying process (Sengun et al., 2009). This finding underscores the need for careful optimization of drying parameters in order to preserve the

probiotic characteristics of fermented foods like tarhana.

#### *LAB diversity in tarhana dough and powder tarhana samples*

LAB colonies were counted on both MRS and M17 media followed by purification, after which identification tests commenced. While the API 50 CHL LAB identification tests and classical biochemical identification tests revealed differences in some biochemical properties among the 20 different samples, they yielded only two isolates. The *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* and *S. thermophilus* isolates were obtained as the results of this investigation. There were no other lactic acid bacteria to be found. It is believed that the heat treatment applied to the raw materials during the boiling process for tarhana production has an adverse impact on the growth of other lactic acid bacteria. Furthermore, only the bacteria found in the yogurt added to the mixture post-boiling were isolated. Ilango and colleagues reported that *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus* and *L. fermentum* species were isolated from tarhana (Ilango and Antony, 2021). In this regard, our investigation produced akin findings to the existing literature.

*Sensory analysis of tarhana soups:* The sensory analysis outcomes for the powdered tarhana soup samples utilized in the study are depicted in Table 6.

Table 6. Sensory analysis results of tarhana soup samples.

Features	Samples				
	A <sub>s</sub>	B <sub>s</sub>	C <sub>s</sub>	D <sub>s</sub>	E <sub>s</sub>
Color	8,40 <sup>a</sup> ± 0,89	7,40 <sup>a</sup> ± 0,55	5,80 <sup>b</sup> ± 0,84	4,60 <sup>cb</sup> ± 0,55	3,60 <sup>c</sup> ± 0,55
Taste	7,80 <sup>a</sup> ±0,84	5,40 <sup>b</sup> ± 0,89	4,40 <sup>cb</sup> ±0,89	3,60 <sup>cd</sup> ± 0,89	2,40 <sup>d</sup> ±0,55
Smell	8,00 <sup>a</sup> ± 0,71	7,60 <sup>a</sup> ±0,55	6,20 <sup>b</sup> ±0,84	4,60 <sup>c</sup> ±0,55	2,80 <sup>d</sup> ±0,84
Consistency	8,40 <sup>a</sup> ± 0,55	7,40 <sup>a</sup> ±0,55	5,60 <sup>b</sup> ±0,55	4,00 <sup>c</sup> ±0,71	3,00 <sup>c</sup> ±0,71
Foreign taste and smell	3,20 <sup>c</sup> ±0,45	4,60 <sup>b</sup> ±0,55	5,00 <sup>b</sup> ±0,71	6,60 <sup>a</sup> ±0,55	7,60 <sup>a</sup> ±0,55
General acceptability	8,60 <sup>a</sup> ±0,55	7,40 <sup>a</sup> ± 0,89	5,40 <sup>b</sup> ±0,55	4,40 <sup>b</sup> ±0,55	2,80 <sup>c</sup> ±0,84

\*: mean ± standard deviation

<sup>a-d</sup>: Lower case letters in the same row are comparisons of tarhana samples. Different letters indicate a statistical difference between the samples (p<0.05).

The statistical analysis indicated a significant effect (p<0.05) of stale breadcrumbs on the colour,

taste, aroma, texture, foreign taste and odour, and general taste attributes of the samples. Based on the results of the sensory analysis, sample A, which represents the control group and uses 100% wheat flour, obtained the highest score in overall appreciation. The sample labelled B, with a wheat flour to stale breadcrumbs ratio of 75:25, came in second place. The remaining examples are identified as C, D, and E. The E sample, which used 100% stale breadcrumbs, displayed the lowest score. These findings demonstrate that tarhana composed of 25% stale breadcrumbs provides a viable alternative to tarhana produced solely from white wheat flour.

The pH, protein, fat and moisture values of all tarhana samples were similar, indicating that the physicochemical properties of tarhana were not adversely affected by stale breadcrumbs. The protein content of tarhana was low because the stale breadcrumbs were produced from modern wheat, as expected. The addition of stale breadcrumbs led to a noteworthy increase in ash content in powdered tarhana. With increased stale breadcrumbs in the tarhana, the brightness decreased and the colour darkened. It was found that the colour values of the tarhana obtained were within TSE standards. The bacterial, yeast, and lactic acid bacterial counts in the tarhana dough samples on the 1st, 3rd and 5th day of fermentation were deemed to conform to the prescribed standards across all samples. Moreover, based on the results of the microbiological analysis, adding stale breadcrumbs to tarhana did not affect yoghurt bacteria and fermentation factors in tarhana adversely. It is crucial to detect *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus* and *S. thermophilus* isolates in the produced tarhanas. After conducting a thorough sensory analysis, it has been determined that tarhana production can incorporate breadcrumbs obtained from stale bread at a ratio of no more than 25%.

## Conclusions

This study demonstrated that the quality characteristics of tarhana prepared with varying

proportions of stale bread did not differ significantly from those made with 100% wheat flour. These findings suggest that stale bread can be effectively utilized in tarhana production, offering an opportunity to reduce costs without compromising product quality. Furthermore, the presence of specific lactic acid bacteria supports the potential development of a probiotic tarhana soup. Additionally, the long-term stability of the probiotic properties in tarhana was not assessed. Future research should address these limitations by exploring the economic implications of stale bread usage in more detail, investigating a broader spectrum of lactic acid bacteria, and evaluating the potential health benefits and shelf-life stability of probiotic tarhana.

## Declarations

**Conflict of Interest:** The authors declare that there is no conflict of interest between them.

**Author Contribution:** All authors contributed equally

## Acknowledgements/Funding

This study was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit, Erciyes University (Project Number: FBY-08-588).

## References

- AACC. (2000). American Association of Cereal Chemists Approved methods of the AACC (10th ed.). Am Assoc Cereal Chem. St. Paul. USA.
- Anonymous (1981). TSE tarhana standard. Official methods of analysis. Bakanlıklar: The Institute of Turkish Standard.
- Akan, S., & Özdestan Ocak Ö. (2019). Evaluation of storage time and grape seed extract addition on biogenic amines content of tarhana: A cereal-based fermented food. *LWT*, 111, 861-868.,
- Akarca, G., Tomar, O., & Gok, V. (2015). Effect of different packaging methods on the quality of stuffed and sliced Mozzarella cheese during storage. *J. Food Proces Pres*, 39, 2912-2918.
- Aktaş, K., & Akin, N. (2020). Influence of Rice Bran and Corn Bran Addition on the Selected Properties of Tarhana, A Fermented Cereal Based Food Product. *LWT - Food Science and Technology*, 129, 109574.
- Bilgiçli, N. (2009). Effect of buckwheat flour on chemical and functional properties of tarhana. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 42(2), 514-518.
- Binou, P., Yanni, A. E., & Karathanos, V. T. (2020). Physical Properties, Sensory Acceptance, Postprandial Glycemic Response, and Satiety of Cereal Based Foods Enriched With Legume Flours: A review. *Critical*

- Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–19.
- Bozkurt, O., & Gürbüz, O. (2008). Comparison of lactic acid contents between dried and frozen tarhana. *Food Chem*, 108 (1), 198-204.
- Cankurtaran Kömürcü, T., & Bilgiçli, N. (2022). Effect of Ancient wheat Flours and Fermentation Types on Tarhana Properties. *Food Bioscience*, 50, 101982.
- Cappelli, A., & Cini, E. (2021). Challenges and Opportunities in Wheat Flour, Pasta, Bread, and Bakery Product Production Chains: A Systematic Review of Innovations and Improvement Strategies to Increase Sustainability, Productivity, and Product Quality. *Sustainability*, 13, 2608.
- Değirmenciöğlü, N., Göçmen, D. & Dağdelen, F. A. (2005). Influence of Tarhana Herb on Tarhana Fermentation, *Food Technology Biotechnology*, 43(2), 175–179.
- Dymchenko, A., Geršl, M. & Gregor, T. (2023). Trends in bread waste utilisation. *Trends in Food Science & Technology*, 132, 93-102.
- Erol T, Özdestan Ocak Ö. Influence of pomegranate seed extract on the formation of biogenic amines in a cereal based fermented food: Tarhana. *J Food Sci Technol*. 2020 Dec;57(12):4492-4500.
- Gökalp, E. (2020). System dynamics modelling of bread waste problem. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 26(4), 831-837.
- Gularte, M., Gómez, M. & Rosell, C. (2011). Impact of Legume Flours on Quality and In Vitro Digestibility of Starch and Protein from Gluten-Free Cakes. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 10.1007/s11947-011-0642-3.
- Hammed, A. M. & Simsek, S. (2014). Hulled wheats: A review of Nutritional Properties and Processing Methods. *Cereal Chemistry*, 91(2), 97–104.
- Ilango, S. & Antony, U. (2021). Probiotic Microorganisms from Non-Dairy Traditional Fermented Foods, *Trends in Food Science & Technology*, 118, 617-638.
- I.Y. Sengun, D.S. Nielsen, M. Karapinar, M. Jakobsen Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarhana, a traditional Turkish fermented food *International Journal of Food Microbiology*, 135 (2) (2009), pp. 105-111
- Kılıç Keskin, H., Bilgiçli, N. & Yaver, E. (2022). Development of gluten-free tarhana formulations: Part II. Utilization of legume composite flours and baker's yeast. *Food Bioscience*, 47, 101692.
- Kilci, A., & Göçmen, D. (2014). Changes in Antioksidant Activity and Phenolic Acid Composition of Tarhana With Steel Cut Oats. *Food Chemistry*, 145, 777-783.
- Köse, E. & Çağındı, Ö. S. (2002). An Investigation into the Use of Different Flours in Tarhana. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 219-222.
- Kumar, V., Brancoli, P., Narisetty, V., Wallace, S., Charalampopoulos, D., & Dubey, B. K. (2023). Bread waste – A potential feedstock for sustainable circular biorefineries, *Bioresource Technology*, 369, 128449.
- Özdemir, N., Yazıcı, G., Şimşek, Ö., Özkal, S. G., & Çon, A. H. (2018). The effect of lactic acid bacteria and yeast usage on aroma development during tarhana fermentation. *Food Bioscience*, 26, 30-37.
- Sawadogo-Lingani, H., Lei, V., Diawara, B., Nielsen, D. S., Møller, P. L., & Traoré, A. S. (2007). The biodiversity of predominant lactic acid bacteria in dolo and pito wort for the production of sorghum beer, *Journal of applied mikrobiology*, 765-777.
- Stringini, M., Comitini, F., Taccari, M., & Ciani, M. (2009). Yeast diversity during tapping and fermentation of palm wine from Cameroon. *Food Microbiology*, 26(4), 415–420.
- I.Y. Sengun, D.S. Nielsen, M. Karapinar, M. Jakobsen Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarhana, a traditional Turkish fermented food *International Journal of Food Microbiology*, 135 (2) (2009), pp. 105-111.
- Tarakcı,, Z., Dogan, İ. S., & Koca, A. F. (2004). A Traditional Fermented Turkish Soup, Tarhana, Formulated With Corn Flour and Whey. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 455–458.
- Tasdelen, E., & Şimşek, Ö. (2021). The Effects of Ropy Exopolysaccharide-Producing *Lactiplantibacillus Plantarum* Strains on Tarhana Quality. *Food Bioscience*, 43, 101282.
- Temiz, A. & Pirkul, T. (1990). Tarhana Fermentasyonunda Kimyasal ve Mikrobiyolojik Değişimler. *Gıda*, 15(2), 119- 126.
- TSE No: 2282 (2004). Tarhana Standard. Institute of Turkish Standards, Ankara.
- Yıldırım, H., Capone, R., Karanlık, A., Bottalico, F., Debs, P. & El Bilalı, H. (2016). Food Wastage in Turkey: An Exploratory Survey on Household Food Waste. *Journal of Food and Nutrition Research*, 4(8), 483-489.
- Yusufoglu, B., Yaman, M, & Karakuş, E. (2021). Glycemic evaluation of some breads from different countries via in vitro gastrointestinal enzymatic hydrolysis system. *Food Science and Technology*, 42, 10.1590.



# Türk ve Seylan siyah çaylarının fitokimyasal içeriklerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi

## Determination of phytochemical contents and antioxidant capacities of Turkish and Ceylon black teas

Ahmet EFE<sup>1\*</sup>, Hayrullah YILMAZ<sup>2</sup>, Mehmet BOĞA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Tarım ve Orman Bakanlığı, Türkiye Milli Botanik Bahçesi Müdürlüğü, Ankara-Türkiye

<sup>2</sup>Dicle Üniversitesi, Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi, Kimya Eğitimi Anabilim Dalı, Diyarbakır-Türkiye

<sup>3</sup>Dicle Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilim Dalı, Diyarbakır-Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-9870-0317>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0002-5275-6606>; <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-4163-9962>

### To cite this article:

Efe, A., Yılmaz, H. & Boğa, M. (2024). Türk ve Seylan siyah çaylarının fitokimyasal içeriklerinin ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4):673-689

DOI: 10.29050/harranziraat.1481635

### \*Address for Correspondence:

Ahmet EFE

e-mail:

ahmet.efe@tarimorman.gov.tr

Received Date:

10.05.2024

Accepted Date:

04.09.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### Öz

Bu çalışmada, yerli Türk çaylarından 5 adet ve ithal Seylan çaylarından 5 adet ticari siyah çay (*Camellia sinensis*) Diyarbakır ilindeki süpermarketlerden temin edilmiştir. Siyah çaylar hem kuru hem de farklı sürelerde (5, 10, 15, 30, 45, 60 dakika) demlenerek analiz edilmiştir. Kuru siyah çaylar, antioksidan aktiviteleri (DPPH ve ABTS) analizleri için etanolde ekstrakte edilirken, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, fenolik asitler (kuinik asit, gallik asit, salisik asit, klorojenik asit, 4-OH-benzoik asit), kateşinlerin (kateşin, epikateşin gallat, epigallo kateşin ve epigallokateşin gallat), hesperedin, alkaloidlerin (teofilin, kafein ve teobromin) analizleri için ise metanolde ekstrakte edilmiştir. Ayrıca 5, 10, 15, 30, 45, 60 dakikalarda demlenen siyah çaylarda yukarıda bahsedilen analizler ile teafavin (TF) ve tearubigin (TR) analizleri yapılmıştır. Antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, teafavin (TF) ve tearubigin (TR) içerikleri spektrofotometrik yöntemle belirlenirken; fenolik asitler, kateşinler, hesperedin ve alkaloidlerin miktar tayinleri ise LC/MS-MS cihazı ile analiz edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, Seylan siyah çaylarının ekstrelerinin antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, fenolik asitleri, kateşinleri, hesperedin ve alkaloid miktarları Türk siyah çay örneklerine kıyasla daha yüksek olarak belirlenmiştir. Farklı sürelerde demlenmiş hem Seylan hem de Türk siyah çaylarının infüzyonlarında yapılan analizlerin sonuçlarına bakıldığında, antioksidan aktivitelerin (ABTS ve DPPH), toplam flavonoid ve fenolik madde miktarlarının süreyle doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. En yüksek TF ve TR miktarları 60 dakikalık demleme sonundaki infüzyonlarda belirlenmiştir. Fenolik asitler, kateşinler, hesperedin ve alkaloidlerin (teofilin, kafein ve teobromin) demeye geçen en yüksek değerleri, çay çeşidine ve demleme sürelerine göre farklılık göstermektedir. Bazı demleme sürelerinde yerli Türk çaylarının miktarları yüksek belirlenirken, bazı demleme sürelerinde de ise ithal Seylan çaylarının miktarları daha yüksek belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Siyah çay (*Camellia sinensis*), demleme süresi, antioksidan, fenolik madde, alkaloidler

### ABSTRACT

In this study, 5 Ceylon and 5 Turkish commercial black teas (*Camellia sinensis*) were obtained from supermarkets in Diyarbakır province. Black teas were analyzed both dry and by brewing for different times (5, 10, 15, 30, 45, 60 min). Dry black teas were extracted in ethanol for antioxidant activities (DPPH and ABTS), while total phenolic and flavonoid content, phenolic acids (quinic acid, gallic acid, salicylic acid, chlorogenic acid, 4-OH-benzoic acid), catechins (catechin, epicatechin gallate, epigallocatechin and epigallocatechin

gallate), hesperidin, alkaloids (theophylline, caffeine and theobromine) were extracted in methanol. In addition, the above-mentioned analyses and theaflavin (TF) and thearubigin (TR) analyses were performed on black teas brewed for 5, 10, 15, 30, 45, and 60 minutes. Antioxidant activities, total phenolic and flavonoid content, theaflavin (TF) and thearubigin (TR) contents were determined by spectrophotometric method, while phenolic acids, catechins, hesperidin and alkaloids were analyzed by LC/MS-MS device. As a result of the analysis, the antioxidant activities, total phenolic and flavonoid substance amounts, phenolic acids, catechins, hesperidin and alkaloid amounts of Ceylon black tea extracts were determined to be higher compared to Turkish black tea samples. When the results of the analyses performed on the infusions of both Ceylon and Turkish black teas brewed for different durations are examined, it is observed that antioxidant activities (ABTS and DPPH), total flavonoid and phenolic substance amounts increase in direct proportion to the duration. The highest TF and TR levels were determined in the infusions at the end of 60 minutes of brewing. The highest values of phenolic acids, catechins, hesperidin and alkaloids (theophylline, caffeine and theobromine) that pass into the tea vary according to the tea type and brewing times. While the amounts of local Turkish teas were determined to be higher in some brewing times, the amounts of imported Ceylon teas were determined to be higher in some brewing times.

**Key Words:** Black tea (*Camellia sinensis*), brewing time, antioxidant, phenolic substances, alkaloids

## Giriş

Theaceae familyasının *Camellia* cinsine (*Camellia sinensis*, (L) O. Kuntze) ait olan çay bitkisi dört mevsim yeşil ve çok yıllık bir bitkidir (Caffin ve ark., 2004). Yeryüzünde sudan sonra en çok tüketilen içecek siyah çaydır (Del Rio ve ark., 2004, Wang ve Ho, 2009). Türkiye, dünyada çay tarımı yapılan alanlarının genişliği yönünden sekizinci, kuru çay üretiminde altıncı sırada yer alırken, kuru çay tüketiminde ise üçüncü sırada yer almaktadır (Çaykur, 2016).

Çay (*Camellia sinensis*), son 2000 yılda en popüler alkolsüz içeceklerden biri olarak dünyanın beğenisini kazanmıştır. Dünyada günde yaklaşık 18 ila 20 milyar bardak çay tüketilmektedir. Dünya çapında üretilen çayın %78'i siyah çaydır ve genellikle Batı ülkelerinde tüketilmekte iken, %20'si yeşil çaydır ve Asya ülkelerinde yaygın olarak tüketilmektedir. %2'si ise ağırlıklı olarak Güney Çin'de kısmi fermantasyon yoluyla üretilen oolong çayıdır (Atasoy ve ark., 2019).

Düzenli siyah çay içmenin sağlık üzerinde olumlu etkiler yaptığı son yıllarda yapılan araştırmalarla belirlenmiştir (Ötleş ve Akçiçek, 2010). Siyah çayın düzenli tüketilmesinin kolesterolün düşürülmesi, kanser ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesi gibi birçok hastalıktan korunmada faydaları vardır (Del Rio ve ark., 2004; Su ve ark., 2007). Bu faydalar siyah çayın içerdiği fenolik bileşiklerin antioksidan etkilerinden kaynaklanmaktadır (Chen ve Ho, 1995; Karori ve ark., 2007; Rao ve ark., 2006).

Siyah çayın işlenmesi sırasında çayda bulunan flavanollerin yaklaşık %15'i değişmeden

kalmaktadır ve teaflavine (TF) dönüşen oran ise yaklaşık %10 dur. Geriye kalan flavanollerin yaklaşık %75'i ise tearubigine (TR) dönüşmektedir (Kaçar, 2010). Siyah bir çayın demindeki nitelik, renk, burukluk ve parlaklık yönünden iyi olması için TF/TR oranı 1/10 olmalıdır. Bu oran 1/25 veya daha yüksek ise çay demindeki parlaklık ve burukluk önemli oranda düşmektedir (Davies, 1983).

Teobromin, kafein ve teofilin gibi alkaloidler siyah çayda bulunmaktadır. Bunlar, merkezi sinir sistemi üzerinde farklı şekilde etkilidirler. Kafein merkezi sinir sistemi üzerinde kuvvetli etki gösterirken, teobromin ise zayıf etki göstermektedir (Mammadov, 2014). Siyah çayın yapısında kafein olduğu için, insanlar siyah çayı içtiklerinde yorgunlukları gider ve kendilerini canlı hissederler (Ötleş ve Akçiçek, 2010).

Bu çalışma, Türk ve ithal Seylan siyah çaylarının kalitelerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Bu amaç doğrultusunda siyah çayların antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları, bazı fenolik asitler, kateşinler, alkaloidler ile teaflavin ve tearubigin analizleri yapılmıştır.

## Materyal ve Metod

### Materyal ve kimyasal maddeler

Çalışmada kullanılmak üzere Diyarbakır'daki marketlerde paketlenmiş olarak satılan ticari 5 adet ithal Seylan ve 5 adet yerli Türk çayı olmak üzere toplam 10 siyah çay temin edilmiştir.

Kullanılan kimyasallar; Etanol, 2,2'-Azinobis (3-

etilbenzotrazolin-6-sülfonik asit (ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), metanol, sodyum bikarbonat, Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi, sodyum karbonat, potasyum asetat, alüminyum nitrat, kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, teofilin, kafein, teobromin, etil asetat, n-bütanol, oksalik asit Merck (Almanya) firmasından, gallik asit, salisik asit, Sigma-Aldrich (Almanya) firmasından, kuinik asit, 4-OH-benzoik asit Aldrich (Almanya) firmasından ve kuersetin, klorojenik asit, hesperedin Sigma (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıkta veya HPLC saflıktadır.

### *Ekstraksiyon yöntemleri*

#### *Etanol ekstrelerinin hazırlanması*

0.2 g kuru siyah çay üzerine 5 mL %70'lik etanol çözeltisi eklendikten sonra 70 °C deki su banyosunda 10 dakika bekletildi. Daha sonra santrifüjde 3500 devir/dakika olacak şekilde 10 dakika santrifüj edildi. Tüpün içerisinde bulunan berrak kısım dikkatli bir şekilde başka bir tüpe aktarıldı ve etanol ile 10 mL'ye tamamlandı. Etanolde çözülerek konsantrasyon 1000 ppm olacak şekilde stok çözeltiler hazırlandı.

#### *Metanol ekstrelerinin hazırlanması*

Siyah kuru çay analizleri için; örneklerin hazırlanması ISO 14502-2'e göre yapılmıştır. Santrifüj tüpünün içerisine 0.2 g siyah çay konuldu ve üzerine 70 °C deki su banyosunda bekletilen %70'lik metanol çözeltisinden 5 mL ilave edildi. Tüpün ağzı kapatıldı ve 15 saniye süre ile vorteksten geçirildi. Tüp 70 °C deki su banyosuna konularak 5 dakika bekletildi. Süre sonunda tüp tekrar 15-20 saniye süre boyunca vorteks ile karıştırıldı ve tekrar 70 °C deki su banyosuna konularak 5 dakika daha beklendi. Süre sonunda tüp su banyosundan alınarak oda sıcaklığına kadar soğutuldu ve 3500 devir/dakikalık santrifüjde 10 dakika tutuldu. Santrifüjden alınan tüp içerisindeki berrak kısım dikkatli bir şekilde 10 mL'lik başka bir tüpe aktarıldı. Berrak kısmı alınan tüp içerisinde kalan tortu kısmın üzerine tekrar 70 °C deki su banyosunda bekleyen metanol çözeltisinden 5 mL

ilave edilip yukarıdaki işlemler tekrar edildi. Son durumda elde edilen berrak çözeltinin bulunduğu tüp 10 mL'lik çizgisine kadar metanol çözeltisi ile tamamlandı. Metanol çözeltisi ile seyreltilen örnekler, 0.2 µm mikrofiber filtreden geçirildikten sonra LC-MS/MS cihazında okutuldu.

#### *İnfüzyonların hazırlanması*

2 g kuru siyah çay üzerine 200 mL 100 °C'deki distile su eklenerek, 100 °C'deki sıcak su banyosu üzerinde farklı sürelerde (5, 10, 15, 30, 45 ve 60 dk) bekletildi. Süzülen infüzyonun sıcaklığı oda sıcaklığına geldikten sonra konsantrasyonları 1000 ppm olacak şekilde distile su ilave edilerek stok çözeltileri hazırlandı.

#### *Toplam fenolik ve flavonoid miktar tayini*

Toplam fenolik miktar tayini, Singleton ve arkadaşları (1999) tarafından modifiye edilen yöntemle yapıldı. Toplam fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlendi. Standart fenolik bileşik olarak galik asit kullanıldı. Bunun için önce bir kalibrasyon grafiği çizildi. Farklı konsantrasyonlarda galik asit çözeltileri hazırlandı. Balon jöjelere sırasıyla 0.5 mL Folin-Ciocalteu Fenol Reaktifi ve 3 dakika sonra da 1.5 mL % 2' lik Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> çözeltisinden ilave edildi. Karışım 2 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra örneklerin absorbansı 760 nm'de distile sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Kontrol için galik asit ve örnek hariç diğer reaktifleri içeren çözelti kullanıldı. Örnekler içinde, 0.5 mL alınıp aynı işlemler aynı anda yapıldı. Numunelerin absorbans değerlerine karşılık gelen galik asit ekivalent miktarı standart grafiklerinden bulundu.

Toplam fenolik madde miktarı standart grafikten elde edilen ( $y=0.021x-0.0126$  ( $r^2=0.9985$ )) doğru denkleminde yararlanarak µg gallik asit olarak hesaplanmıştır.

Toplam flavonoid miktar tayini, Park ve ark. (1997) metoduna göre yapıldı. Standart flavonoid olarak kuersetin kullanıldı. Bunun için önce kalibrasyon grafiği çizildi. Farklı konsantrasyonlarda kuersetin çözeltileri hazırlandı. Bu amaçla 25 mg kuersetin 25 mL destile suda çözülerek 1 mg/mL konsantrasyonda



stok çözelti hazırlandı. Bu çözeltiler 25 mL'lik balon jöjelere aktarıldı. Daha sonra bunun üzerine sırasıyla 25 mL saf su, 0.1 mL suda hazırlanmış 1 M CH<sub>3</sub>COOK ve 0.1 mL (%10) Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.9H<sub>2</sub>O çözeltileri ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat boyunca bekletilip 415 nm de absorbanları saf sudan oluşan köre karşı kaydedildi. Aynı işlemler örnekler içinde yapıldı. Kalibrasyon grafiği çizildikten sonra, toplam flavonoid konsantrasyonu standart grafikten elde edilen ( $y=0.029x+0.0066$  ( $r^2=0.9977$ )) doğru denkleminde yararlanarak µg kuersetin olarak hesaplanmıştır.

#### *Antioksidan aktiviteleri*

##### *DPPH serbest radikal giderim yöntemi*

1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) serbest radikali kullanılarak serbest radikal giderim aktiviteleri belirlendi (Blois, 1958). 2, 5, 10 ve 20 µL stok çözeltilerden alındıktan sonra hacimleri 40 µL olacak şekilde etanol ile tamamlandı. 160 µL, 0.1 mM lik DPPH çözeltisinden ilave edildi. 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletildikten sonra absorbanlar 517 nm'de ölçüldü.

##### *ABTS katyon radikali giderim aktivitesi*

2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) kullanılarak ABTS katyon radikali giderim aktivitesi belirlendi (Re ve ark. 1999). 2, 5, 10 ve 20 µL stok çözeltilerden alındıktan sonra hacimleri 40 µL olacak şekilde etanol ile tamamlandı. 160 µL, 7 mM ABTS katyon radikali çözeltisinden üzerlerine eklendi. 6 dakika karanlıkta bekletildi ve daha sonra absorbanları 734 nm'de ölçüldü.

##### *Kimyasal içeriğinin LC/MSMS ile belirlenmesi*

Ekstrelerdeki ve infüzyonlardaki kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallo kateşin gallat, kuinik asit, gallik asit, salisilik asit, klorojenik asit, 4-OH-Benzoik asit, hesperedin, teofilin, kafein ve teobromin miktarları LC/MSMS analizi ile belirlenmiştir.

#### *Kullanılan cihaz ve şartları*

HPLC Marka model: a Nexera model Shimadzu,

Pompa: LC-30AD binary, Degasser: DGU-20A3R, Autosampler: SIL-30AC, Kolon: ACE 3 C18, 150× 4.6mm (Alkaloidler ve Flavanoller (Kateşinler)) C18 reversed-phase Inertsil ODS-4 (150 mm × 4.6 mm, 3 µm), analitik kolon (Hesperedin ve Fenolik Asitler), Akış hızı: 0.5 mL dak<sup>-1</sup>, Enjeksiyon hacmi: 4 µL., MS (Kütle Spektroskopisi) Marka model: Shimadzu LCMS 8040 model triple quadrupole mass spectrometer, arayüz sıcaklığı; 350 °C, DL temperature; 250 °C heat block temperature; 400°C, nebulizing gas flow (nitrogen); 3 L min<sup>-1</sup>, kurutma gaz akışı (nitrogen); 15 L dk<sup>-1</sup>, Mobil Faz: A: Ultra saf su (% 0.2 Formic acid), B: % 100 Acetonitril, Gradient program B fazına göre t (dk.), B%: (0, 40), (20, 90), (23.99, 90), (24,40), (29, 40).

##### *Teaflavin (TF), tearubigin (TR) miktar tayini*

Ekstre ve infüzyonlardaki teaflavin ve tearubigin analizleri Yao ve ark. (2006)'nın geliştirdikleri spektrofotometrik yöntemle göre yapılmıştır.

##### *İstatistik analizi*

Çalışmada, JMP (SAS Institute Inc., 2002) istatistik paket programı kullanılmış ve F testi ile sonuçlar incelenmiştir.

#### **Araştırma Bulguları ve Tartışma**

##### *Toplam fenolik ve flavonoid madde miktar tayini sonuçları*

Hem ekstrelerde hem de infüzyonlardaki toplam fenolik ve toplam flavonoid madde miktarları Türk siyah çay örneklerine kıyasla Seylan siyah çay örneklerinde daha yüksek oranda belirlenmiştir. Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki toplam fenolik ve flavonoid madde miktarlarının varyans analizinde çaylar ve demleme süreleri arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, çay x demleme süreleri interaksyonu önemsiz bulunmuştur. Seylan siyah çay örneklerindeki toplam fenolik madde miktarı, Türk siyah çaylarından daha yüksek belirlenmiştir. Demleme süreleri bakımından en yüksek toplam fenolik madde miktarı (396.33 mg GAE g<sup>-1</sup>) 60 dakikalık

demleme süresinden elde edilirken, en düşük (243.51 mg GAE g<sup>-1</sup>) 5 dakikalık demleme süresinden elde edilmiştir. Demleme süresi artıkça toplam fenolik miktarı da artmıştır (Çizelge 1). Seylan siyah çay örneklerindeki toplam flavonoid miktarı, Türk siyah çaylarından daha yüksek belirlenmiştir. Demleme süreleri bakımından en yüksek toplam flavonoid miktarı (130.88 mg QE g<sup>-1</sup>) 60 dakikadan elde edilirken, en düşük toplam flavonoid miktarı (86.88 mg QE g<sup>-1</sup>) 5 dakikalık demleme süresinden elde edilmiştir. Demleme süresi artıkça toplam flavonoid miktarı da artmıştır (Çizelge 2). Konyalioglu ve Karamenderes (2004) siyah çayın antioksidan etkisinin, toplam fenol ve toplam flavonoid miktarları ile orantılı olduğunu belirtmiştir.

Çalışmamızın sonucunda elde edilen veriler önceki çalışmalarda elde edilen siyah çayların toplam fenolik madde miktarı sonuçları ile karşılaştırıldığında bazı farklılıklar dikkat çekmektedir. Bravo ve ark. (2007) siyah çaylarda

toplam fenolik madde miktarını 93.62 mg 100 mL<sup>-1</sup> olarak belirlerken, Manzocco ve ark. (1998) 801.16 mg GAE L<sup>-1</sup>, Almajano ve ark. (2008) 1844±15.7 mg GAE L<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir. Ramalho ve ark. (2013) siyah çayları 2.5, 5, 7.5, 10, 15, 20, 25 ve 30 dakikalarda demlemişler ve fenolik madde miktarları sırasıyla 95.6-169.1, 170.2-205.6, 97.8-253.1, 178.5-274, 163.2-284.5, 129- 239.4, 159.7-182.3, 182.3-311 mg galik asit g<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir.

Ayrıca, Hajiaghaalipour ve ark. (2016) Malezya'da iki farklı firmaya ait siyah çay örneklerini 5 dakika boyunca 100 °C'de demlemişler ve toplam fenolik miktarını 458.44 mg GAE L<sup>-1</sup> ve 461.20 mg GAE L<sup>-1</sup> olarak belirlemişlerdir. Siyah çay örneklerindeki farklı fenolik madde ve flavonoid miktarları hasat bölgesindeki koşullara, hasat zamanına ve fermantasyon süresine göre değişiklik göstermektedir.

Çizelge 1. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların toplam fenolik madde içerikleri

Table 1. Total phenolic substance contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg GAE g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg GAE L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	168.52	322.46	386.50	432.69	472.6	520.52	536.35	445.19 A
Türk Turkish	126.25	164.57	176.58	210.38	234.35	244.56	256.32	214.46 B
Ortalama Mean		243.51 D	281.54 CD	321.54 BC	353.47 AB	382.54 A	396.33 A	

DK % : 15.35, Çay markaları LSD: 26.27\*\*, Demleme Süreleri LSD:45.53\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD  
\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 15.35, Tea brands LSD: 26.27\*\*, Brewing Times LSD: 45.53\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 2. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların toplam flavonoid madde içerikleri

Table 2. Total flavonoid substance contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg QE g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) ((mg QE L <sup>-1</sup> ))						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	13.54	108.47	120.23	126.88	135.22	151.76	156.64	133.19 A
Türk Turkish	9.69	65.29	70.65	80.86	89.34	100.24	105.13	85.25 B
Ortalama Mean		86.88 D	95.44 CD	103.87 CD	112.28 BC	126.00 AB	130.88 A	

DK % : 18.42, Çay markaları LSD: 10.45\*\*, Demleme Süreleri LSD:18.09\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 18.42, Tea brands LSD: 10.45\*\*, Brewing Times LSD: 18.09\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

### Antioksidan aktivite sonuçları

Bu çalışmada ekstrelerin ve infüzyonların antioksidan potansiyelleri DPPH ve ABTS yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Hem etanol ekstrelerinde hem de infüzyonlarda elde edilen ortalama IC<sub>50</sub> değerlerine göre Seylan çaylarının antioksidan kapasitesi daha yüksektir. Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki antioksidan aktivite sonuçlarının varyans analizinde çaylar ve demleme süreleri arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, çay x demleme süreleri interaksyonu önemsiz bulunmuştur.

Demleme süreleri artıkça IC<sub>50</sub> değerleri düşmektedir yani antioksidan kapasiteleri artmaktadır. Kelebek (2016) farklı sürelerde siyah çayı demlemiş, demleme süresi artıkça ABTS katyon radikal giderim aktivitesi ve DPPH serbest radikal giderim aktivitesi değerlerinin arttığını belirlemiştir. Önceki araştırmalarda, farklı demleme şartlarında farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Camargo ve ark. (2016) Brezilya'da siyah çay örneklerinde 30 dakika demleme sonucunda DPPH IC<sub>50</sub> değerini 40.16 µg mL<sup>-1</sup>, ABTS IC<sub>50</sub> değerini 14.55 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Hajiaghaalipour ve ark. (2016) Malezya'da iki farklı firmaya ait siyah çayda 5 dakika süresince 100 °C'de demleme sonucunda elde edilen infüzyonlara ait DPPH IC<sub>50</sub> değerini 93.03 µg mL<sup>-1</sup> ve 91.55 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Daşdemir (2019) siyah çayda 7 dakikalık sıcak su ile demleme sonucunda elde edilen infüzyonun DPPH IC<sub>50</sub> değerini 40.78 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Karaküçük (2018) siyah çayda içilebilir nitelikteki farklı sular ile 20 dakikalık sıcak su ile demleme sonucunda elde ettiği infüzyonların DPPH IC<sub>50</sub> değerini 28.80-36.48 µg mL<sup>-1</sup> olarak belirlemiştir. Chang ve ark. (2020) Tayvan'da siyah çayda 1 dakikalık 60 °C-100 °C arasında demleme sonucunda elde ettiği infüzyonların DPPH IC<sub>50</sub> değerlerini 28.40-100.00 µg mL<sup>-1</sup> arasında belirlemiştir.

Çizelge 3. Siyah çay örneklerinin etanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların antioksidan aktivitesinin (DPPH) ortalama IC<sub>50</sub> değerleri (µg mL<sup>-1</sup>)

Table 3. Average IC<sub>50</sub> values of antioxidant activity (DPPH) of ethanol extracts of black tea samples and infusions obtained brewing times (µg mL<sup>-1</sup>)

Çay markaları Tea brands	Etanol Ekstreleri Ethanol Extracts	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min))						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	28.20	57.60	49.15	48.08	43.87	41.07	39.92	74.97 A
Türk Turkish	62.49	86.66	77.12	75.10	71.97	70.41	68.56	46.61 B
Ortalama Mean		72.13 A	63.14 B	61.59 B	57.92 C	55.74 CD	54.23 D	

DK % : 6.47, Çay markaları LSD: 2.04\*\*, Demleme Süreleri LSD:3.54\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 6.47, Tea brands LSD: 2.04\*\*, Brewing Times LSD: 3.54\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 4. Siyah çay örneklerinin etanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların antioksidan aktivitesinin (ABTS) ortalama IC<sub>50</sub> değerleri (µg mL<sup>-1</sup>)

Table 4. Average IC<sub>50</sub> values of antioxidant activity (ABTS) of ethanol extracts of black tea samples and infusions obtained brewing times (µg mL<sup>-1</sup>)

Çay markaları Tea brands	Etanol Ekstreleri Ethanol Extracts	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min))						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	7.60	16.99	14.57	13.87	11.76	11.48	10.13	13.14 B
Türk Turkish	12.27	31.62	30.06	28.78	27.27	27.15	26.01	28.48 A
Ortalama Mean		24.31 A	22.31 AB	21.33 BC	19.52 CD	19.32 CD	18.07 D	

DK % : 11.77, Çay markaları LSD: 1.27\*\*, Demleme Süreleri LSD:2.20\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 11.77, Tea brands LSD: 1.27\*\*, Brewing Times LSD: 2.20\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

#### LC/MSMS Sonuçları

LC/MSMS cihazı ile ekstrelerdeki ve infüzyonlardaki kateşin, epikateşin gallat, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, kuinik asit, gallik asit, salisilik asit, klorojenik asit, 4-OH-Benzoik asit, hesperedin, teofilin, kafein ve teobromin miktarları analizleri yapılmıştır.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki kateşin ve klorojenik asit, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, gallik asit, salisilik asit, hesperedin ve kafein miktarlarının varyans analizinde çaylar arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, epigallokateşin, 4-OH- Benzoik asit miktarlarının varyans analizinde çaylar arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.05$ ) önemli bulunmuştur. Teofilin miktarlarının varyans analizinde çaylar arasındaki

fark istatistik olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki salisilik asit, 4-OH-Benzoik asit ve kafein miktarlarının varyans analizinde demleme süreleri arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunurken, epikateşin gallat, epigallokateşin gallat, gallik asit miktarlarının varyans analizinde demleme süreleri arasındaki fark istatistik olarak ( $p < 0.05$ ) önemli bulunmuştur. Kateşin, epigallo kateşin, klorojenik asit, ve hesperedin miktarlarının varyans analizinde demleme süreleri arasındaki fark istatistik olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki epikateşin gallat, salisilik asit miktarlarının varyans analizinde çay x demleme süreleri interaksyonu istatistik olarak

( $p < 0.05$ ) önemli bulunurken, kateşin, epigalo kateşin, epigallokateşin galat, galik asit, klorojenik asit, 4-OH- Benzoik asit, hesperidin, kafein miktarlarının varyans analizinde çay x demleme süreleri interaksyonu istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur.

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların infüzyonlardaki kuinik asit, teobromin, teafavin ve tearubigin miktarlarının varyans analizinde çaylar, demleme süreleri arasındaki fark ve çay x demleme süreleri interaksyonu istatistiki olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunmuştur.

Seylan çaylarının ekstrelerindeki fenolik bileşikler ve alkaloidlerin miktarlarının Türk çaylarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Seylan çaylarının infüzyonlarındaki fenolik bileşik miktarları Türk çaylarına göre daha yüksek, alkaloidlerden teofilin miktarı ise Türk çaylarına göre daha düşük bulunmuştur. Hem fenolik bileşiklerin hem de alkaloidlerin miktarları demleme süresi farklılıklarına göre değişiklik göstermiştir.

Seylan siyah çay ekstrelerinde belirlediğimiz Kateşin (C) değeri ( $1.95 \text{ mg g}^{-1}$ ); Liang ve ark. (2003)'nın Çin'den aldıkları siyah çay örneklerinin C değerinden ( $4.77 \text{ mg g}^{-1}$ ) ve Wu ve ark. (2012)'nin belirledikleri C değerinden ( $2.77 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir. Epikateşin gallat (ECG) değeri ( $11.11 \text{ mg g}^{-1}$ ) ise, Bonnely ve ark. (2003)'ün belirledikleri ECG değerinden ( $0.16-2.54 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha yüksek belirlenirken, Wu ve ark. (2012)'nin belirledikleri değerden ( $35.70-46.28 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir.

Türk siyah çay ekstrelerinde belirlediğimiz C değeri ( $\%0.015$ ); Sağlam ve Türkyılmaz (2007)'ün belirledikleri değerlere ( $\%ND-0.019$ ) paralel olarak belirlenirken, Özdemir ve ark. (2008)'nin belirledikleri değerlerden ( $\%0.11-1.30$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir. ECG değeri ( $0.59 \text{ mg g}^{-1}$ ) ise, Türkmen (2007)'in belirledikleri değere ( $0.16-2.54 \text{ mg g}^{-1}$ ) paralel olarak belirlenirken, Özdemir ve ark. (2008)'nin belirledikleri değerden ( $0.37-1.65 \text{ mg g}^{-1}$ ) daha düşük olarak belirlenmiştir.

Farklı sürelerdeki demleme sonucu elde ettiğimiz infüzyonların Kateşin (C), Epikateşin gallat (ECG), Epigallokateşin (EGC) ve Epigallokateşin gallat (EGCG) değerleri, Carloni ve ark. (2013)'nin belirttiği değerden düşük olarak belirlenmiştir. Carloni ve ark. (2013) 0.5 g siyah çayı  $90^\circ\text{C}$ 'de 20 mL suda 7 dakika süreyle demlemişler ve C, EGC, EGCG ve ECG değerlerini sırasıyla;  $0.0209 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $0.848 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $0.848 \text{ mg mL}^{-1}$  ve  $0.230 \text{ mg mL}^{-1}$  olarak belirlemişlerdir. Seylan siyah çay örneklerinde demleme sonucu bulduğumuz C, ECG, EGC ve EGCG değerleri; Wang ve ark. (2000)'nin belirledikleri sonuçlarla karşılaştırıldığında; hesapladığımız C değerinin daha düşük olduğu, ECG değerinin paralellik gösterdiği, EGC ve EGCG değerlerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Wang ve ark. (2000)'nin Sri Lanka siyah çaylarında deme geçen kateşin miktarlarını belirlemek için yaptıkları çalışmada, 3'er g siyah çay örnekleri 150 mL kaynar su ile 5 dakika demlemeye bırakılmış ve suya geçen kateşin miktarları belirlenmiştir. Sri Lanka siyah çay örneklerindeki infüzyonda; EGC  $1.84 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ , C  $0.50 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ , EGCG  $1.16 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$ , ECG  $2.92 \text{ mg } 100 \text{ mL}^{-1}$  belirlenmiştir.

Siyah çay örneklerindeki kafein içerikleri; Türkmen (2007) tarafından  $17.51-26.26 \text{ mg g}^{-1}$ , Khokhar ve Magnusdottir (2002) tarafından  $25-28 \text{ mg g}^{-1}$ , Sharma ve ark. (2005) tarafından  $17.5 \text{ mg g}^{-1}$ , Zuo ve ark. (2002) tarafından  $21.6 \text{ mg g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir. Siyah çaylarda teobromin miktarı, Sharma ve ark. (2005) tarafından  $1.06-2.5 \text{ mg g}^{-1}$  ve Khanchi ve ark. (2007) tarafından ise  $0.36-0.45 \text{ mg g}^{-1}$  olarak belirlenmiştir.

Siyah çay örneklerinde belirlediğimiz fenolik bileşiklerin ve alkaloidlerin miktarları farklılık göstermektedir. Çay yapraklarının hasat sezonunun, bitkinin yetiştiği iklim şartlarının, toprak yapısının, yaprağın yaşının, çayın toplanma zamanının ve çayın işleme teknolojisinin çayın kimyasal bileşimini etkilediği görülmektedir (Kan, 1980; Wicremasinghe, 1974).

Çizelge 5. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların kateşin içerikleri  
Table 5. Catechin contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	1.95	6.16	5.52	6.17	7.99	6.66	7.11	6.61 A
Türk Turkish	0.15	0.31	0.43	0.55	0.66	0.38	0.64	0.49 B
Ortalama Mean		3.24	2.97	3.36	4.33	3.52	3.87	

DK % : 45.02, Çay markaları LSD: 0.83\*\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 45.02, Tea brands LSD: 0.83\*\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 6. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların epikateşin galleri içerikleri

Table 6. Epicatechin gallat contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	11.11	26.07 bc	20.82 c	25.65 bc	32.63 a	29.71 ab	32.54 a	27.90 A
Türk Turkish	0.59	0.63 d	1.01 d	1.34 d	1.46 d	1.73 d	1.64 d	1.30 B
Ortalama Mean		13.35 AB	10.92 B	13.50 AB	17.05 A	15.72 A	17.09 A	

DK % : 29.27, Çay markaları LSD: 2.22\*\*, Demleme Süreleri LSD:3.84\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 5.44\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 29.27, Tea brands LSD: 2.22\*\*, Brewing Times LSD: 3.84\*, Tea x Brewing Time: LSD: 5.44\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation

Çizelge 7. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların epigalokateşin içerikleri

Table 7. Epigallocatechin contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.94	0.90	1.02	2.57	1.11	1.51	1.59	1.45 A
Türk Turkish	0.05	0.21	0.13	0.19	0.12	0.14	0.13	0.16 B
Ortalama Mean		0.55	0.57	1.38	0.61	0.83	0.86	

DK % : 181, Çay markaları LSD: 0.76\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 181, Tea brands LSD: 0.76\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 8. Siyah çay örneklerinin metanol ekstraktları ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların epigalokateşin galleri içerikleri

Table 8. Epigallocatechin gallat contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	6.97	0.88	0.82	1.79	2.94	1.59	2.47	1.75 A
Türk Turkish	0.10	0.01	0.05	0.29	0.33	0.38	0.47	0.26 B
Ortalama Mean		0.44 B	0.43B	1.04AB	1.63A	0.98AB	1.47A	

DK % : 96.42, Çay markaları LSD: 0.50\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.87\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 96.42, Tea brands LSD: 0.50\*\*, Brewing Times LSD: 0.87\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 9. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların kuinik asit içerikleri

Table 9. Quinic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	10.35	50.21b	9.85de	10.25de	12.76d	55.89a	52.90ab	31.98 A
Türk Turkish	4.82	25.25c	5.06e	5.58e	7.81de	25.35c	26.14c	15.87 B
Ortalama Mean		37.73 A	7.45 B	7.92 B	10.29 A	40.62 A	39.52 A	

DK % : Çay markaları LSD: 2.25\*\*, Demleme Süreleri LSD:3.89\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 5.50\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : Tea brands LSD: 2.25\*\*, Brewing Times LSD: 3.89\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: : 5.50\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 10. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların gallik asit içerikleri

Table 10. Gallic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.73	3.09	0.67	0.59	2.90	1.34	2.05	1.78 A
Türk Turkish	0.11	1.01	0.24	0.25	0.10	0.12	0.13	0.31 B
Ortalama Mean		2.05A	0.45B	0.42B	1.50AB	0.73B	1.09AB	

DK % : 122.54, Çay markaları LSD: 0.66\*\*, Demleme Süreleri LSD:1.15\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 122.54, Tea brands LSD: 0.66\*\*, Brewing Times LSD: 1.15\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 11. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların salisilik asit içerikleri

Table 11. Salicylic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.05	0.19a	0.05de	0.06de	0.15ab	0.17ab	0.18a	0.14 A
Türk Turkish	0.03	0.13bc	0.03de	0.02e	0.13e	0.08cd	0.14ab	0.07 B
Ortalama Mean		0.16 A	0.04 C	0.04C	0.08B	0.13A	0.16A	

DK % : 42.84, Çay markaları LSD: 0.02\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.04\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 0.05\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemsiz

CV % : 42.84, Tea brands LSD: 0.02\*\*, Brewing Times LSD: 0.04\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: 0.05\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 12. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların klorojenik asit içerikleri

Table 12. Chlorogenic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.19	1.31	1.16	1.34	1.62	1.22	1.06	1.29 A
Türk Turkish	0.01	0.01	0.02	0.03	0.02	0.03	0.01	0.02 B
Ortalama Mean		0.65	0.59	0.68	0.82	0.63	0.54	

DK % : 47.72, Çay markaları LSD: 0.16\*\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 47.72, Tea brands LSD: 0.16\*\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 13. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen İnfüzyonların 4-OH-Benzoik asit içerikleri

Table 13. 4-OH-Benzoic acid contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.06	0.21	0.02	0.15	0.08	0.19	0.20	0.12 A
Türk Turkish	0.03	0.13	0.04	0.02	0.03	0.12	0.15	0.08 B
Ortalama Mean		0.17A	0.03B	0.01B	0.05B	0.16A	0.18A	

DK % : 53.79, Çay markaları LSD: 0.03\*, Demleme Süreleri LSD:0.05\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 53.79, Tea brands LSD: 0.03\*, Brewing Times LSD: 0.05\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant



Çizelge 14. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların hesperedin içerikleri

Table 14. Hesperidin contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts(mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.35	1.35	1.44	1.52	1.80	1.62	1.49	1.54 A
Türk Turkish	0.14	0.52	0.58	0.72	0.54	0.51	0.34	0.54 B
Ortalama Mean		0.93	1.01	1.12	1.17	1.06	0.92	

DK % : 36.57, Çay markaları LSD: 0.20\*\*, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD : ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 36.57, Tea brands LSD: 0.20\*\*, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 15. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların teofilin içerikleri

Table 15. Theophylline contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts(mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	0.05	1.12	1.51	0.98	1.66	1.29	0.81	1.23
Türk Turkish	0.03	1.41	1.53	1.46	1.34	1.38	0.89	1.33
Ortalama Mean		1.27	1.52	1.22	1.50	1.33	0.85	

DK % : 41.34, Çay markaları LSD: ÖD, Demleme Süreleri LSD: ÖD, Çay x Dem.Sür: LSD :ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 41.37, Tea brands LSD: NS, Brewing Times LSD: NS, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 16. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların kafein içerikleri

Table 16. Caffeine contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	32.05	132.87	144.59	148.29	172.64	159.92	184.47	157.13 A
Türk Turkish	19.90	89.98	95.99	98.54	111.05	106.08	106.87	101.42 B
Ortalama Mean		111.43 E	120.29 DE	123.41 CD	141.85 AB	132.99 BC	145.67 A	

DK % : 10.03, Çay markaları LSD: 6.73\*\*, Demleme Süreleri LSD:11.66\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD :ÖD

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir, ÖD: Önemli değil

CV % : 10.03, Tea brands LSD: 6.73\*\*, Brewing Times LSD: 11.66\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: NS

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 17. Siyah çay örneklerinin metanol ekstreleri ve farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların teobromin içerikleri

Table 17. Theobromine contents of methanol extracts of black tea samples and infusions obtained from different brewing times

Çay markaları Tea brands	Metanol Ekstreleri Methanol Extracts (mg g <sup>-1</sup> )	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) infusions (Brewing times (min)) (mg L <sup>-1</sup> )						Ortalama Mean
		5	10	15	30	45	60	
Seylan Ceylon	3.71	14.74d	17.40c	17.77c	21.19ab	18.67bc	22.29a	18.68 A
Türk Turkish	0.43	1.71e	1.68e	1.99e	2.01e	1.70e	2.25e	1.89 B
Ortalama Mean		8.22 D	9.54CD	9.88bCD	11.60AB	10.19BC	12.27A	

DK % : 19.57, Çay markaları LSD: 1.04\*\*, Demleme Süreleri LSD:1.81\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 2.56\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 19.57, Tea brands LSD: 1.04\*\*, Brewing Times LSD: 1.81\*\*, Tea x Brewing Time: LSD: 2.56\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

### Tearubigin (TR) ve teaflavin (TF) miktar tayini sonuçları

Farklı demleme sürelerinde Türk ve Seylan siyah çayların hem ekstrelerde hem de infüzyonlardaki teaflavin ve tearubigin miktarlarının varyans analizinde çaylar ve demleme süreleri arasındaki fark ile çay x demleme süreleri interaksyonu istatistik olarak ( $p < 0.01$ ) önemli bulunmuştur. Demleme süreleri arttıkça TR ve TF miktarlarında artış gözlemlenmiştir. Seylan siyah çaylarındaki TR ve TF değerleri Türk çaylarındakinden daha yüksek olarak belirlenmiştir. Yao ve ark. (2006) Avustralya'da yaptıkları çalışmada TF oranlarını %0.32-1.10 ve TR %3.91-10.7 olarak belirlemişlerdir, bu sonuçlar bu çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Bu çalışmanın sonuçları Peterson ve ark. (2004)'nın Assam siyah çaylarında belirledikleri değerlerden (TF; 1157 mg 100g<sup>-1</sup> ve TR; 14.653 mg 100g<sup>-1</sup>) daha düşük olarak belirlenmiştir.

Türk siyah çaylarında belirlenen TF ve TR değerleri, daha önceden Türk siyah çayları üzerinde yapılan araştırmalara bakıldığında daha düşük olarak tespit edilmiştir. Sağlam ve Türkyılmaz (2007) TF değerlerini %0.117-0.208; Poyrazoğlu ve Gürses (2004) TF değerlerini %0.256-0.373, TR değerlerini %3.40-4.38 olarak

bulmuşlardır, bu sonuçlar bu çalışmadan elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir. Türkmen (2007) TF değerlerini 9.89-19.95 mg g<sup>-1</sup>; Arslan ve Toğrul (1995) TF değerlerini %0.47-0.83, TR değerlerini %9.22-13.84 olarak belirlemişlerdir, bu sonuçlar, bu çalışmada elde edilen sonuçlardan daha yüksektir.

Siyah bir çayın deminin nitelik, renk, burukluk ve parlaklık yönünden iyi olması için TF/TR oranı 1/10 olmalıdır. Bu oran 1/25 veya daha yüksek ise çay demindeki parlaklık ve burukluk ehemmiyetli bir şekilde düşmektedir (Davies, 1983). Çayın demindeki nitelik, renk, burukluk ve parlaklık açısından en iyi sonuç, 5. dakikada demlenen çaylarda elde edilmiştir. Demleme süresi arttıkça bu niteliklerin zamanla azaldığı tespit edilmiştir. 60. dakikada, siyah Seylan çaylarında TF/TR oranı yaklaşık 1/14 iken, Siyah Türk çaylarında ise TF/TR oranı yaklaşık 1/17'dir. Tüm demleme sürelerinde Seylan çaylarındaki TF/TR oranı 1/10'a daha yakın olduğu için, yukarıda belirtilen nitelikler açısından Seylan siyah çayları, Türk siyah çayından daha niteliklidir diyebiliriz. Çalıştığımız siyah çayların TF/TR oranı 1/10 ile 1/25 arasındadır. Dolayısıyla çalıştığımız siyah çayların, çayın demindeki nitelik, renk, burukluk ve parlaklık yönünden iyi/iyiye yakın birer siyah çay olduklarını söyleyebiliriz.

Çizelge 18. Siyah çay örneklerinin farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların tearubigin içerikleri (mg L<sup>-1</sup>)

Table 18. Tearubigin contents of infusions obtained from different brewing times (mg L<sup>-1</sup>)

Çay markaları <i>Tea brands</i>	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) <i>infusions (Brewing times (min))</i>						Ortalama <i>Mean</i>
	5	10	15	30	45	60	
Seylan <i>Ceylon</i>	3.55h	5.39de	6.35c	7.35b	7.54b	8.17a	6.39 A
Türk <i>Turkish</i>	2.63ı	3.59gh	4.13g	4.73f	4.94ef	5.54d	4.26 B
Ortalama <i>Mean</i>	3.09 E	4.49 D	5.24 C	6.03 B	6.24 B	6.85 A	

DK % : 8.23, Çay markaları LSD: 0.23\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.39\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD : 0.56\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 8.23, *Tea brands* LSD: 0.23\*\*, *Brewing Times* LSD: 0.39\*\*, *Tea x Brewing Time*: LSD: 0.56\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 19. Siyah çay örneklerinin farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların teafavin içerikleri (mg L<sup>-1</sup>)

Table 19. *Theaflavin contents of infusions obtained from different brewing times (mg L<sup>-1</sup>)*

Çay markaları <i>Tea brands</i>	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) <i>infusions (Brewing times (min))</i>						Ortalama <i>Mean</i>
	5	10	15	30	45	60	
Seylan <i>Ceylon</i>	0.34d	0.47c	0.54b	0.58a	0.60a	0.61a	0.53 A
Türk <i>Turkish</i>	0.22g	0.29ef	0.29ef	0.30ef	0.32de	0.33de	0.29B
Ortalama <i>Mean</i>	0.28 D	0.38 C	0.42 B	0.45 A	0.46 A	0.47 A	

DK % : 6.63, Çay markaları LSD: 0.01\*\*, Demleme Süreleri LSD:0.02\*\*, Çay x Dem.Sür: LSD :0.03\*\*

\*\*0.01 seviyesinde; \* 0.05 seviyesinde önemlidir

CV % : 6.63, *Tea brands* LSD: 0.01\*\*, *Brewing Times* LSD: 0.02\*\*, *Tea x Brewing Time*: LSD: 0.03\*\*

\*\*Significant at 0.01 level; \* Significant at 0.05 level, CV: Coefficient of variation, NS: Not significant

Çizelge 20. Siyah çay örneklerinin farklı demleme süreleri sonucu elde edilen infüzyonların TR/TF içerikleri

Table 20. *TR/TF contents of infusions obtained from different brewing times*

Çay markaları <i>Tea brands</i>	İnfüzyonlar (Demleme süreleri(dk)) <i>infusions (Brewing times (min))</i>					
	5	10	15	30	45	60
Seylan <i>Ceylon</i>	10.44	11.49	11.77	12.46	12.57	14.93
Türk <i>Turkish</i>	11.95	12.38	13.76	15.77	15.00	16.79

## Sonuçlar

Çalışmamızda, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı, fenolik asit ve flavanol (kateşinler) içerikleri, hesperedin miktarı, TF ve TR miktarları sonuçlarına bakıldığında Seylan siyah çay örneklerinin Türk siyah çayına oranla daha zengin içeriğe sahip olduğu belirlenmiştir. Kafein ve teobromin alkaloidlerinin Seylan siyah çay örneklerinde daha yüksek olduğu belirlenirken, teofilin alkaloidinin Türk siyah çay örneklerinde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Yapılan bu çalışmanın sonucunda demleme süresi artıka antioksidan aktivitenin, toplam fenolik madde miktarının, toplam flavonoid madde miktarının, TF ve TR miktarlarının arttığı tespit edilmiştir. Fenolik asitler, flavanoller (kateşinler), hesperedin ve alkaloidlerin demeye geçtiği en yüksek miktarlar, siyah çay çeşidine ve zamana göre farklılıklar göstermiştir.

Elde ettiğimiz TF/TR oranı sonuçlarına göre, çalıştığımız tüm demlenmiş çayların, parlaklık, renk, nitelik ve burukluk yönünden iyi/ iyiye yakın oldukları belirlenmiştir.

## Ekler

Bu çalışmayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (DÜBAP) tarafından desteklenen "Siyah Çayların Farklı Demleme Sürelerine Göre Kimyasal Bileşiminin Araştırılması" isimli doktora tezinin bir kısmını içermektedir. Desteginden dolayı DÜBAP' a teşekkür ederim.

## Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmamaktadır.

## Yazar Katkısı

Bu makale doktora projesinden derlenmiştir. Araştırmanın Kurgulanması Ahmet EFE ve Hayrullah YILMAZ ile birlikte yapılmıştır. Tüm analizler Ahmet efe tarafından gerçekleştirilmiştir. Mehmet BOĞA antioksidan analizleri için destek vermiştir ve yayının düzenlenmesine de yardımcı olmuştur. Gözden geçirme ve düzeltme Hayrullah yılmaz tarafından yapılmıştır.

## Kaynaklar

- Almajano, M.P., Carbo, R., Jimenez, J.A.L., & Gordon, M.H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, 108, 55-63.
- Çaykur (2016). Çay sektörü raporu. Erişim. Çaykur Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü.
- Erişim <http://www.caykur.gov.tr/Pages/Yayinlar/YayinDetay.aspx?ItemType=5&ItemId=21>
- Arslan, N., & Toğrul, H. (1995). Türk çaylarında kalite parametreleri ve mineral maddelerin farklı demleme koşullarında deme geçen miktarları. *Gıda Dergisi*, 20 (3), 179 -185.
- Atasoy, A.D., Yeşilnacar, M.İ., Yıldırım, A., & Atasoy, A.F.(2019). Nutritional minerals and heavy metals in tea infusions and daily intake of human body. *Turkish Journal of Agriculture -Food Science and Technology*,7(2), 234-239, 2019.

- Blois, M.S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Bonnely, S., Davis, A.L., Lewis, J.R., & Astill, C. (2003). A model oxidation system to study oxidised phenolic compounds present in black tea. *Food Chemistry*, 83, 485-492.
- Bravo, L., Goya, L., & Lecumberri, E. (2007). LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Research International*, 40, 393-405.
- Caffin, N., D'Arcy, B., Yao, L., & Rintoul, G. (2004). Developing an Index of Quality for Australian Tea. Rural Industries Research and Development Corporation.
- Camargo, L.E.A., Pedrosoa,L.S., Vendrameb, S.C., Mainardesb, R.M., & Khalilb, N.M. (2016). Antioxidant and antifungal activities of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze leaves obtained by different forms of production. *Braz. J. Biol.*, 76 (2), 428-434.
- Carlioni, P., Tiano, L., Paddela, L., Baccheti, T., Customo, C., Kay, A., & Damiana, E. (2013). Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same cultivar. *Food Research International*, 53, 900-908.
- Chang, M.Y., Linn, Y.Y., Chang, Y.C., Huang, W.Y., Lin, W.S., Chen, C.Y., Huang, S.L., & Lin,Y.S. (2020). Effects of infusion and storage on antioxidant activity and total phenolic content of black tea. *Appl. Sci.*, 10, 2685.
- Chen, C., W., & Ho, C.T. (1995). Antioxidant properties of polyphenols extracted from green tea and black teas. *Journal of Food Lipids*, 2, 35-46.
- Daşdemir, Y. (2019).Farklı kurutma yöntemleri ile kurutulmuş maviyemiş meyvesinin farklı oranlarda ilavesi ile üretilen siyah çayların antioksidan kapasitesi ve fenolik profilinin tespiti (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir.
- Davies, A.G. (1983). Theaflavins objective indicators of quality. *Tea Research Foundation of Central Africa*, 70, 15-16.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E. J., Brighenti, F., & Crozier, A. (2004). HPLC-MS analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2807-2815.

- Hajiaghaalipour, F., Sanusi, J., & Kanthimathi, M.S., (2016). Temperature and time of steeping affect the antioxidant properties of white, green, and black tea infusions. *Journal of Food Science*, 81 (1).
- Kaçar, B. (2010). *Çay Bitkisi, Biyokimyası, Gübrenmesi, İşleme Teknolojisi*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
- Kan, N. (1980). The aroma constituents of various teas. *Food Industry*, 12, 19–22.
- Karaküçük, Ü. (2018). Farklı içme sularının siyah çayın dem kalitesi üzerine etkisi (Yayımlanmamış yüksek lisans tezi). Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Karori, S. M., Wachira, F.N., Wanyoko, J. K. & Ngure, & R.M. (2007). Antioxidant capacity of different types of tea products. *African Journal of Biotechnology*, 6 (19), 2287-2296.
- Kelebek, H. (2016). LC-DAD -ESI-MS/MS characterization of phenolic constituents in Turkish black tea: Effect of infusion time and temperature. *Food Chemistry*, 204, 227- 238
- Khanchi, A.R., Mahani, M.K., Hajhosseini, M., Maragheh, M.G., Chaloosi, M., & Bani, F. (2007). Simultaneous spectrophotometric determination of caffeine and theobromine in Iranian tea by artificial neural Networks and its comparison with PLS. *Food Chemistry*, 103, 1062-1068.
- Khokhar, S., & Magnusdottir, S.G.M. (2002). Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 565-570.
- Konyalioğlu, S., & Karamenderes, C. (2004). Screening of total flavonoid, phenol contents and antioxidant capacities of some *Achillea L.* species growing in Turkey. *Acta Pharmaceutica Turcica*, 46 (3), 163-170.
- Liang, Y., Lu, J., Zhang, L., Wu, S., & Wu, Y. (2003). Estimation of black tea quality by analysis of chemical composition and colour difference of tea infusions. *Food Chemistry*, 80, 283-290.
- Mammadov, R. (2014). *Tohumlu Bitkilerde Sekonder Metabolitler*. Ankara: Nobel Akademik Yayıncılık Danışmanlık.
- Manzocco, L., Anese, M., & Nicoli, M.C. (1998). Antioxidant properties of tea extracts as affected by processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 694-698.
- Ötleş, S., & Akçiçek, E. (2010). *Beslenme ve Sağlık*. Palme Yayınevi.
- Özdemir, F., Şahin, H., Akdoğan, A., Dinçer, C., & Topuz, A. (2008). Türk siyah çayının fenolik madde kompozisyonu üzerine rakım, sürgün dönemi ve çay sınıfının etkisi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, (ss 141-144), Erzurum, Türkiye.
- Park, Y.K., Koo, M.H., Ikegalki, M., Contado, J.L. 1997. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Technologia*, 40, 97-106.
- Peterson, J., Dwyer, J., Jacques, P., Rand, W., Prior, R., & Chui, K. (2004). Tea variety and brewing techniques influence flavonoid content of black tea. *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 397-405.
- Poyrazoğlu, E.S., & Gürses, Ö.L. (2004). Çay deminin bileşimine etkili bazı faktörler üzerinde araştırma. *Gıda Mühendisliği Dergisi*, 17, 38-45.
- Ramalho, S.A., Nigam, N., Oliveira, G.B., Oliveira, P.A., Silva, T.O.M., Santos, A.G.P., & Narain, N. (2013). Effect of infusion time on phenolic compounds and caffeine content in black tea. *Food Research International* 51, 155-161.
- Rao, T.P., Lekh, R.J., & Takado, Y. (2006). Green tea catechins against oxidative stress of renal diseases. *Protective Effects of Tea on Human Health*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237.
- Sağlam, N., & Türkyılmaz, K. (2007). *Ticari Olarak Piyasada Satılan Türk ve Yabancı Kökenli Çayların Bazı Fenolik Madde ve Kafein İçeriklerinin Belirlenmesi*. Rize, Atatürk Çay ve Bahçe Kültürleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü.
- SAS Institute Inc. (2002). *JMP user's guide Statistics*. version 5.0. SAS Inst., Cary, NC.
- Sharma, V., Gulati, A., Ravindranath, S.D., & Kumar, V. (2005). A simple and convenient method for analysis of tea biochemicals by reverse phase HPLC. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 583-594.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation

- substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299,152-178.
- Su, X., Duan, J., Jiang. Y., Duan, X., & Chen, F. (2007). Polyphenolic profile and antioxidant activities of oolong tea infusion under various steeping conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 8, 1196-1205.
- Türkmen, N. (2007). Farklı sınıf çaylarda kavrma proseslerinin ve değişik hasat dönemlerinin çayın fenolik madde ve alkaloid bileşimine etkisi (Yayımlanmamış doktora tezi). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Wang, Y., & Ho, C.-T. (2009). Polyphenolic chemistry of tea and coffee; A century of progress. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8109-8114.
- Wang, J., Provan, G.J., & You, X. (2000). Isocratic elution system for the determination of catechins, caffeine and gallic acid in green tea using HPLC. *Food Chem.*, 68,115-121.
- Wicremasinghe, R. L. (1974). The mechanism of operation of climatic factors in the biogenesis of tea flavor. *Phytochemistry*, 13, 2057–2061.
- Wu, C., Xu, H., Heritier, J., & Andlauer, W. (2012). Determination of catechins and flavonol glycosides in chinese tea varieties. *Food Chemistry* 132, 144-149.
- Yao, L.H., Jiang, Y.M., Caffin, N., Arcy, B.D., Datta, N., Liu, X., Singanusong, R., & Xu, Y. (2006). Phenolic compounds in tea from Australian supermarkets. *Food Chemistry* 96, 614-620.
- Zuo, Y., Chen, H., & Deng, Y. (2002). Simultaneous determination of catechins, caffeine and gallic acids in green, oolong, black and pu-erh teas using HPLC with a photodiode array detector. *Talanta*, 57, 307-316

# ***Staphylococcus aureus* ile kontamine edilmiş sığır kıymaları üzerine kamkat kabuğu tozu ve kamkat suyunun antimikrobiyal etkisinin araştırılması**

## ***Investigation of antibacterial effect of kumquat bark powder and kumquat juice on Staphylococcus aureus inoculated into beef***

Zübeyde Polat<sup>1\*</sup> , Halil Yalçın<sup>2</sup> , Ali Soyuçok<sup>3</sup> , Rüveyda Çoban<sup>4</sup> 

<sup>1-2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Burdur, Türkiye.

<sup>2</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Burdur, Türkiye

<sup>3</sup>Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Burdur, Türkiye

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0001-6662-1721>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-2162-2418>, <sup>3</sup><https://orcid.org/0000-0003-2626-5827>, <sup>4</sup><https://orcid.org/0009-0006-2459-7894>

### **To cite this article:**

Polat Z., Yalçın H., Soyuçok A. & Çoban R. (2024). *Staphylococcus aureus* ile kontamine edilmiş sığır kıymaları üzerine kamkat kabuğu tozu ve kamkat suyunun antimikrobiyal etkisinin araştırılması. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 28(4):690-699

DOI: 10.29050/harranziraat. 1491438

### **\*Address for Correspondence:**

Zübeyde POLAT

**e-mail:**

drcnzbyd@gmail.com

### **Received Date:**

28.05.2024

### **Accepted Date:**

10.09.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### **ÖZ**

Et, protein ve yağ içeriği bakımından insan diyetinin en önemli gıdalarındandır. Et, temel besin öğeleri bakımından zengin olması nedeniyle mikroorganizmaların gelişmesi için uygun bir ortam sağlamakta ve uygun olmayan şartlarda mikrobiyel bozulma hızlı şekillenebilmektedir. Et ürünlerinde raf ömrünü etkileyen en önemli parametre ise mikrobiyal gelişimdir. Bu çalışma kamkat (*Fortunella margarita Swing*) meyvesinden elde edilen toz ve suyun *S. aureus* üzerinde etkisi araştırılmıştır. Kamkat tozu (KT) ve kamkat suyunun (KS) farklı dozları (%0.1 (w/w), %1 (w/w), %2 (w/w)) sığır kıymalarına eklendikten sonra örnekler pişirilip soğutulmuş ve sonra *S. aureus* ile kontamine edilerek +10 °C'de 21 gün boyunca depolanmıştır. Depolanmanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde pH, su aktivitesi (aw), oksidasyon redüksiyon potansiyeli (ORP) analizleri ve *S. aureus* sayımı yapılmıştır. Yapılanlar analizler sonucunda tüm depolama günlerinde gruplar arası en düşük pH değeri KS20 (kamkat suyu %2 (w/w)) grubunda olmuştur (p<0.05). KS01 (kamkat suyu %0.01 (w/w)) hariç tüm gruplarda ilk ve son depolama günlerine göre aw değeri düşmüştür. Son depolama gününde en düşük ORP değeri K grubunda bulunmuştur (p<0.05). KS20 (kamkat suyu %2 (w/w)) grubu 2.23 log kob/g düşüş ile en yüksek inhibisyon derecesine sahip olmuştur (p<0.05). Kamkattan elde edilen toz/suyunun %2 (w/w) konsantrasyonunda et ürünlerine ilavesinin mikrobiyal gelişimin baskılanmasında önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Dekontaminasyon, et ürünleri, *Fortunella margarita Swing*, halk sağlığı

### **ABSTRACT**

This study was conducted to investigate the antibacterial effects of different doses of kumquat powder (KT) and kumquat juice (KS) in ground beef contaminated with *S. aureus* (ATCC 25923). After adding 10% (w/w) water and 2% (w/w) NaCl to the minced meat, different amounts of KS and KT (0.01% (w/w), 1% (w/w), 2% (w/w)) were added to form the experimental groups and the minced meat was cooked. Chilled ground meat was contaminated with *S. aureus*. pH, water activity (aw), oxidation reduction potential (ORP) analyzes and *S. aureus* counts were made on the 0, 7, 14 and 21 days of minced meat stored in a cold environment (+10 °C) for 21 days. According to the findings, the lowest pH value between the groups on all storage days was in the KS20 (kamkat water 2% (w/w)) group. Except for KS01 (kumkat water 0.01% (w/w)), aw value decreased according to the first and last storage days in all groups. The lowest ORP value was found in the K group on the last storage day. The KS20 (kumquat water 2% (w/w)) group had the highest degree of inhibition with a decrease of 2.23 log cfu/g. According to the findings obtained from this study, a practical and healthy method can be created by

adding kumquat powder/juice to prevent possible contamination risks in minced meat and to be used as a natural preservative. It has been demonstrated that *S. aureus* inhibition will be achieved, especially with the addition of 2% (w/w) kumquat juice.

**Key Words:** Decontamination, meat products, *Fortunella margarita* Swing, public health

## Giriş

Kırmızı et, yüksek kaliteli protein kaynağı olmasının yanı sıra sağlık için gerekli mikrobeyinler ve yararlı yağ asitleri ile insan beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda kırmızı et, yetişkin ve çocuklar için elzem olan amino asitleri içeren yüksek biyolojik değere sahip bir protein kaynağıdır (Wyness, 2016). Beslenme için oldukça değerli olan kırmızı et, yüksek miktarda lipit içermeleri nedeniyle ve oksidasyona karşı duyarlı olduğu için kolay bozulabilmektedir. Üretim, işleme, dağıtım ve depolama aşamalarında biyokimyasal ve enzimatik değişikliklerle birlikte mikrobiyal aktivite, et ve et ürünlerinde bozulmalara neden olmaktadır (Lambert ve ark., 2001). Gıda kaynaklı patojenlerin insanlara bulaşmasında kırmızı et önemli bir risk faktördür. ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi'nin 2015 yılı gıda kaynaklı hastalık salgınlarının değerlendirmesine ilişkin yayınladığı rapora göre, hastanede yatarak tedavi olan hastaların %3'ünün Stafilokokal enterotoksin kaynaklı olduğu belirtilmektedir (Lee, 2017).

Stafilokoklar insanlarda ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara ve intoksikasyonlara neden olan bakteri grubunu oluşturmaktadır. *S. aureus* insanların derilerinde ve üst solunum yollarında doğal olarak bulunmaktadır. Sağlıklı bir insanın burun mukozası florasında bulunan bakterilerin yaklaşık %30-40'ını *S. aureus* oluşturmaktadır. Bu nedenle *S. aureus*'un gıdaya bulaşmasında ve gıda zehirlenmelerine sebep olmasındaki en önemli kaynağı insanlar oluşturmaktadır (Akçelik ve ark., 2000; Küplülü, 2002). *S. aureus* toksin üreten ve antibiyotiklere dirençli türleri ile dünyada ciddi sorun oluşturmaktadır (Abdalrahman ve ark., 2015). *S. aureus* geniş pH ve sıcaklık aralığında gelişme gösterebilmekte ve birçok gıda maddesinde canlılığını koruyabilmektedir (Bouchard ve ark., 2013). *S. aureus* insan ve hayvanlardan sıklıkla izole edilmesinin yanında özellikle hayvan orjinli birçok gıdada yaygın

şekilde bulunabilmektedir. *S. aureus* ile gıda ürünlerinin kontaminasyonu, etlerden direkt veya gıda işleme süresince yetersiz hijyen sonucu indirekt olarak meydana gelmektedir (Mørk ve ark., 2012).

Et ve et ürünlerinin üretiminde, olgunlaşmasında, raf ömrünün uzatılmasında birçok sentetik ve doğal antioksidan ve antimikrobiyal madde kullanılmaktadır. Ancak sentetik koruyucuların özellikle nitrit ve nitratların insan sağlığı üzerindeki zararları birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (Ağaoğlu ve ark., 2007). Sentetik antioksidanların toksikolojik güvenirliliğiyle ilgili endişeler nedeniyle, bitki kaynaklı ekstraktlar tüketiciler tarafından daha sağlıklı ve güvenilir olmaları sebebiyle tercih edilmektedir (Banerjee ve ark., 2012).

*Fortunella* cinsine ait olan kamkat Rutaceae familyasının bir üyesidir. Aynı zamanda Rutaceae familyasının diğer üyesi *Citrus* cinsi ile akrabadır (Sadek ve ark., 2009). Rengi turuncu sarı olan kabuk, içerdiği flavonoid ve terpenoidler nedeniyle tipik bir aromaya sahip, tatlı ve yenilebilirdir. Turunçgil meyveleri, birbirlerinden önemli düzeyde farklı kimyasal profil sergilemektedir (Kim ve ark., 2021). Bunlar arasında kamkat, gerek besin öğeleri gerekse fitokimyasallar açısından mükemmel bir kaynak olması ile ön plana çıkmaktadır. Kamkatın uçucu yağları turunçgillerde olduğu gibi kabukta yoğunlaşmıştır. Bu uçucu yağ kompozisyonunu 90'dan fazla bileşiğin oluşturduğu bildirilmektedir. Bunların arasında terpenler en tipik bileşik olup limonen en fazla bulunan terpendir ve tüm yağın %90'ından fazlasını oluşturmaktadır. Gıda endüstrisinde kamkat esansiyel yağları; aroma vermek, antioksidan ve antimikrobiyal etkisinden yararlanılmak amacıyla kullanılmaktadır (Nuray ve Badayman, 2022).

Bu çalışmada, güçlü bir antimikrobiyal ve antioksidan olan kamkat meyvesinin suyunun (KS) ve tozunun (KT), sığır kıymalarına >5 log kob/gr düzeyinde inoküle edilen *S. aureus*'a karşı



etkinliğinin 10°C'de 21 günlük depolama süresince etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Yöntem

### Materyal

Çalışma kapsamında, Burdur'daki lokal bir marketten temin edilen yağ ve bağ dokuları uzaklaştırılmış 24 saat post mortem sığır eti (musculus semitendinosus) kullanılmıştır. Etler 2 mm'lik aynadan geçirildikten sonra soğuk zincir altında ve aseptik koşullarda laboratuvara getirilerek analiz günlerindeki iş paketlerinde kullanılacak miktarlarına göre porsiyonlanarak çalışılmıştır. Sığır etinden kaynaklanabilecek farklılıkları önlemek için çalışmada kullanılan etler aynı partiden alınmıştır. Çalışmada kullanılan *S. aureus* ATCC 25923 suşu Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalından temin edilmiştir. Çalışmada materyal olarak "Nagami" kamkat (Fortunalla margarita Swing) çeşidi kullanılmıştır. Kamkat 2023 yılı şubat ayında Burdur'daki yerel bir satıcıdan temin edilmiştir.

### Kamkat tozu eldesi

Temin edilen kamkat meyveleri öncelikle saf su ile yıkanmış, bıçakla soyularak elde edilen kabuklar 45°C'de 2 gün boyunca etüvde kurutulmuştur. Kabuklar kurutulduktan sonra toz haline getirmek için ev tipi kahve öğütücüsünden (Sinbo SCM-2934) geçirilmiştir. Öğütülen kabuklar çalışma gününe kadar - 20°C'de muhafaza edilmiştir.

### Kamkat suyu eldesi

Kamkatlar deneyin yapılacağı gün taze bir şekilde temin edilmiş ve aseptik şartlarda elde sıkım yöntemiyle, oda sıcaklığında kamkat suyu elde edilmiştir. Kamkat suyu steril ortamda bir süzgeç kullanılarak posasından ayrılmıştır.

### pH analizi

Kamkat suyu ve kamkat tozu için ayrı pH ölçümü yapılmıştır. Analiz için kamkat tozundan 5 g tartılıp üzerine 95 ml saf eklenerek 100 g'a tamamlandıktan sonra pH metre (WTW 3310, Almanya) kullanılarak ölçüm yapılmıştır (Gül ve ark., 2021).

### Et model sisteminin hazırlanması

Kıymalara et ağırlığı üzerinden %10 su (w/w) ve %2 NaCl (w/w) ilave edildikten sonra deneme grupları için porsiyonlama işlemi yapılmıştır. Çizelge 1'de verilen oranlarda kamkat tozu/suyu içeren deneme grubu 50 mL'lik santrifüj tüplerine (Isolab, Türkiye) doldurulmuştur. Her bir deneme grubundan depolamanın 0, 7, 14, ve 21. günlerinde kullanılmak üzere 4 adet tüp dolumu yapılmıştır. Dolumu yapılan tüpler, sıcaklığı 60°C'ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirildikten sonra su banyosunun sıcaklık derecesi 85°C'ye yükseltilmiştir. Daha sonra bir termokupl (ISOLAB, thermometer) yardımıyla deneme gruplarının merkez sıcaklığı takip edilmiştir. Örneklerin merkez sıcaklığı 74°C'ye ulaştığında pişirme işlemi sona erdirilmiştir (Çemtekin ve ark., 2019). Pişirilen örnekler oda sıcaklığında soğutulmaya bırakılmıştır. Soğuyan örneklerin sıvı fazı uzaklaştırılarak 10°C'de 21 gün depolanmıştır.

Çizelge 1. Araştırmada kullanılan deneme grupları  
Table 1. Trial groups used in the research

Gruplar	İçeriği
K	Kamkat ve <i>S. aureus</i> içermeyen deneme grubu
MO	Sadece <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KT01	%0.1 (w/w) Kamkat kabuğu tozu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KT10	%1 (w/w) Kamkat kabuğu tozu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KT20	%2 (w/w) Kamkat kabuğu tozu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KS01	%0.1 (w/w) Kamkat suyu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KS10	%1 (w/w) Kamkat suyu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu
KS20	%2 (w/w) Kamkat suyu ve <i>S. aureus</i> içeren deneme grubu

#### Deneme gruplarının kontaminasyonu

Patojen mikroorganizmaların et modelindeki davranışını belirlemeden önce 18-24 saatlik taze kültürden mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Yapılan ön denemeler sonucunda *S. aureus* ATCC 25923 suşunun 37°C 18 saat sonrası yaklaşık 9 log kob/mL düzeyinde olduğu belirlenmiştir. *S. aureus* ATCC 25923 suşu ana stoktan 30 µL alınarak 10 mL'lik TSB içeren tüplere aktarılmıştır. Bu tüpler 5.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Besiyeri kalıntıları uzaklaştırıldıktan sonra kalan peletler aynı hacim %0.9 (w/w) fizyolojik tuzlu su ile 2 defa yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonunda kalan pelet aynı hacimdeki (10 mL) %0.1 (w/w) peptonlu su içerisinde çözündürülmüştür. Et modelindeki kontaminasyon seviyesi yaklaşık 5 log kob/g olarak hedeflenmiştir. Pişirme işlemi sonunda oda sıcaklığına soğutulan örneklerin pişirme suyu aseptik olarak uzaklaştırılmıştır. Steril kabin içerisinde örnek steril bir pens yardımıyla çıkartılıp ve bakteri süspansiyonundan 1 mL ilave edilerek örnek tekrar tüp içerisine yerleştirilmiştir. Et örneği, kontaminasyon sıvısının bulunduğu tüpte yaklaşık 30 saniye boyunca kontamine edildikten sonra kontaminasyon sıvısı boşaltılmıştır. Her bir depolama günü (0, 7, 14 ve 21. gün) için bir tüp hazırlanmıştır.

#### pH analizi

Çalışmada pH ölçümü pH metre (WTW 3310, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. 5 g örnek 50 mL saf su içerisinde homojenize edildikten sonra pH metre yardımıyla pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

#### Su aktivitesi analizi

Örneklerin su aktivitesi değerleri depolamanın 0,7, 14 ve 21. günlerinde su aktivitesi cihazı (Novasina AG Lab Swift, İsviçre) kullanılarak tespit

edilmiştir.

#### Oksidasyon redüksiyon potansiyeli analizi (ORP)

Örneklerde meydana gelen oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin değişimi WTW pH-ORP 3110 (Almanya) ile belirlenmiştir. Oksijenin etkisini azaltmak için örnek tüp içerisinden çıkartılmamıştır. Örneğin merkezine prob yerleştirilmiş ve 2 dakika beklendikten sonra okuma yapılmıştır (Houser, 2004)

#### Staphylococcus aureus sayımı

Aseptik şartlarda 25 g örnek steril homojenizatör poşetlerine tartılıp üzerine 225 mL peptonlu su ilave edilmiştir. 1 dakika homojenize edildikten sonra bu dilüsyondan seri dilüsyonlar hazırlanarak Baird Parker Agar (Merck, 105406) besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petriler 37°C'de 24-48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 1-2 mm çapında siyah renkli, şeffaf zonlu kolonilerin sayımı yapılarak, sonuçlar log kob/g olarak verilmiştir. Çalışma üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Tenderis ve ark., 2020).

#### İstatistik analiz

Depolamanın 0, 7, 14 ve 21. günlerinde deneme gruplarından aseptik olarak örnekler alınmıştır. Depolama günlerinde yapılan analizlerin farklılıkları istatistiksel olarak ortaya konmuştur. Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde IBM SPSS Statistics Paket programı Version 25 sürümü kullanılmıştır. Sonuçlar tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildikten sonra önemli bulunması

önemli bulunması halinde ( $p < 0.05$ ) Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Analizler 3 paralelli yapılmış olup sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

## Araştırma Bulguları ve Tartışma

### pH analizi

Kamkat suyunun pH değerleri ortalaması 3.09 bulunurken kamkat tozunun pH değeri ortalaması 3.23 olarak tespit edilmiştir. Bulunan değerler yapılan diğer çalışma sonuçlarıyla uyumludur (Gül ve ark., 2021; Turgut ve ark., 2015).

Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin 10°C'de depolanmasında elde edilen pH değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Deneme gruplarının 0. gün pH değerleri 5.59 ile 5.79 arasında değişmekle birlikte KT ilaveli gruplar arasında ve KS10 ile KS20 arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Elde edilen verilerde tüm depolama günlerinde gruplar arası en düşük pH değeri KS20 grubunda olmuştur ( $p < 0.05$ ). Buradan yola çıkarak kamkat suyu miktarının artırılması pH'yı düşürmekte etkili olmuştur. Benzer sonuçlar Gedikoğlu ve Clarke (2019)'ın yaptıkları çalışmada da ortaya konulmuştur. %1 ile %5 narenciye lifi ilave edilen pişmiş kıymalarda kontrol grubuna göre pH'da önemli bir değişikliğe sebep olmazken %10'luk narenciye lifi pH'yı düşürmüştür (Gedikoğlu ve Clarke, 2019). Bingöl ve ark. (2011), limon suyunun çiğ köftede *S. Enteritidis* ve *E. coli*'nin canlılığına etkisini araştırdıkları çalışmalarında limon suyu miktarının artmasıyla pH düşüşünün arttığını tespit etmişlerdir ve bu sonuçlar verilerimizle paralellik göstermektedir (Bingöl ve ark., 2011). Mexis ve ark. (2012), oksijen bağlayıcısı olarak narenciye özütünün tavuk kıymasında kullanıldığı bir çalışmada, narenciye ekstraktının eklenmesinin kullanılan konsantrasyondan bağımsız olarak pH'ı önemli ölçüde etkilemediğini ortaya koymuşlardır (Mexis ve ark., 2012).

Bu veriler ile araştırmamızda elde edilen sonuçlar uyuşmamaktadır. Bunun sebebinin kullanılan narenciye'nin cinsine ve ekstraktın elde edilme yöntemine göre değişebileceği düşünülmektedir. Depolamanın 7. gün analizlerinde KS20 grubu hariç tüm grupların pH değerlerinde bir yükselme meydana gelmiştir ( $p < 0.05$ ). Depolamanın 14. gün analizlerinde 7. güne kıyasla MO, KT20 ve KS10 grupları hariç pH değerleri sabit kaldığı tespit edilmiştir. Son analiz gününde ise tüm grupların pH değeri düşmüştür. Analiz günlerindeki pH değişimlerinin istikrarlı olmamasının sebebi mikroorganizmanın ortama uyum sağlamasıyla üremesine ve ortam sıcaklığının 10°C olmasına bağlanabilir. Depolama süresi boyunca KT01, KT10 ve KS01 gruplarında ilk gün ve son gün arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaz iken, KT20 ve KS10 gruplarında pH'da istatistiksel olarak anlamlı bir yükseliş meydana gelmiştir ( $p < 0.05$ ). Hsouna ve ark. (2017), limon esansiyel yağının kıymaya inoküle edilen *L. monocytogenes*'e karşı koruyucu etkisini araştırdıkları çalışmada depolamanın son gününde ilk gününe göre pH'da yükseliş tespit etmişlerdir (Hsouna ve ark., 2017). Bu yükselişin sebebi etin bozulması sonucunda proteinlerin parçalanması ve alkali reaksiyon bileşiklerince oluşan NH<sub>3</sub> ve aminlerin ortaya çıkmasına bağlanabilir. Elde edilen veriler ışığında KT20 grubunda kullanılan dozun pH'ı depolamanın son günü dahi düşürmesinin bozulmayı geciktirdiği varsayılmaktadır. Ayrıca kamkat suyunun %1 ve %2'lik konsantrasyonunun pH'ı düşürmede daha etkili olduğu belirlenmiştir. Kamkat suyunun, kamkat tozuna göre pH'ı düşürmede daha etkili olduğu söylenebilir. Bunun sebebinin kurutma işlemi sırasında kamkatta uçucu bileşiklerin ve özellikle flavonoidlerin kaybedilmesine bağlı olduğu düşünülebilir.

Çizelge 2. Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin pH sonuçları  
Table 2. *pH results of cooked ground meat samples contaminated with S. aureus*

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	5.77±0.00 <sup>abc</sup>	5.83±0.00 <sup>abA</sup>	5.82±0.00 <sup>bA</sup>	5.79±0.00 <sup>aB</sup>
MO	5.79±0.00 <sup>ab</sup>	5.84±0.00 <sup>aA</sup>	5.79±0.01 <sup>dB</sup>	5.77±0.00 <sup>aC</sup>
KT01	5.67±0.01 <sup>cb</sup>	5.78±0.01 <sup>CA</sup>	5.81±0.00 <sup>CA</sup>	5.70±0.02 <sup>CB</sup>
KT10	5.70±0.02 <sup>cb</sup>	5.81±0.00 <sup>bA</sup>	5.84±0.01 <sup>aA</sup>	5.68±0.01 <sup>cb</sup>
KT20	5.67±0.01 <sup>cd</sup>	5.85±0.00 <sup>aA</sup>	5.79±0.00 <sup>dB</sup>	5.75±0.00 <sup>bc</sup>
KS01	5.74±0.00 <sup>bb</sup>	5.83±0.00 <sup>abA</sup>	5.82±0.00 <sup>bA</sup>	5.74±0.00 <sup>bb</sup>
KS10	5.63±0.00 <sup>dd</sup>	5.74±0.00 <sup>dA</sup>	5.70±0.00 <sup>eB</sup>	5.66±0.00 <sup>dC</sup>
KS20	5.59±0.02 <sup>db</sup>	5.60±0.01 <sup>eAB</sup>	5.64±0.01 <sup>fA</sup>	5.51±0.01 <sup>eC</sup>

(↓) Farklı küçük harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

(→) Farklı büyük harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

### *Su aktivitesi analizi ( $a_w$ )*

Su aktivitesi, bakteriyel bozulmayı, ürünlerin stabilitesini ve raf ömrünü etkileyen en güçlü faktörlerden biridir. *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinde kamkat suyu/tozunun etkinliğinin araştırıldığı çalışmada elde edilen su aktivitesi ( $a_w$ ) sonuçları Çizelge 3'te verilmiştir. 0. gün  $a_w$  sonuçları  $0.90±0.00$  ile  $0.91±0.00$  arasında değişmekle birlikte en düşük  $a_w$  değeri KT10 ve KS gruplarında elde edilmiştir ( $p<0.05$ ). Depolamanın 7. gününde en düşük  $a_w$  değeri KS20 grubunda bulunmuştur. Ayrıca KS01 hariç tüm gruplarda ilk depolama gününe göre  $a_w$  değeri düşmüştür. 14. gün en düşük  $a_w$  değeri K grubunda bulunmakla birlikte,  $a_w$  değerleri 7. gün sonuçlarına göre genellikle artma eğilimi göstermiştir. Son depolama gününde K, MO ve KS01 gruplarında en yüksek ve benzer değerler elde edilirken, diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). İlk

ve son depolama günleri ele alındığında KS01 grubu hariç tüm gruplarda  $a_w$  değerinin düştüğü tespit edilmiştir. KS01 grubunun  $a_w$  değeri tüm depolama günleri boyunca sabit kalmıştır. Tüm veriler ele alındığında kamkat tozunun tüm dozlarının ve kamkat suyunun %1 ve üzeri dozlarının  $a_w$  değerini düşürdüğü söylenebilmektedir. Viuda-Martos ve ark. (2010), narenciye lifi ve baharat esansiyel yağlarının mortadella peynirinin kalite özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada kontrol grubuna göre lifli gruplarda  $a_w$  değerlerinde düşme tespit etmişlerdir (Viuda-Martos ve ark., 2010). Robertson ve ark. (2000), narenciye ve elma diyet liflerinin nişastanın hidrasyon özellikleri üzerine yaptıkları çalışmada nişastanın  $a_w$  değerinin düştüğü tespit edilmiştir (Robertson ve ark., 2000). Yapılan çalışmaların sonuçları elde ettiğimiz verilerle paralellik göstermektedir.

Çizelge 3. Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin su aktivitesi ( $a_w$ ) sonuçları  
Table 3. *Water activity ( $a_w$ ) results of cooked ground meat samples contaminated with S. aureus*

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	0.91±0.00 <sup>abA</sup>	0.89±0.00 <sup>bc</sup>	0.89±0.00 <sup>dc</sup>	0.90±0.00 <sup>aB</sup>
MO	0.91±0.00 <sup>aA</sup>	0.90±0.00 <sup>aC</sup>	0.90±0.00 <sup>aB</sup>	0.90±0.00 <sup>aC</sup>
KT01	0.91±0.00 <sup>abA</sup>	0.89±0.00 <sup>abb</sup>	0.90±0.00 <sup>abA</sup>	0.89±0.00 <sup>abcB</sup>
KT10	0.90±0.00 <sup>CA</sup>	0.89±0.00 <sup>abb</sup>	0.90±0.00 <sup>abcA</sup>	0.89±0.00 <sup>bcB</sup>
KT20	0.91±0.00 <sup>bA</sup>	0.89±0.00 <sup>bB</sup>	0.90±0.00 <sup>abcA</sup>	0.89±0.00 <sup>cb</sup>
KS01	0.90±0.00 <sup>CA</sup>	0.90±0.00 <sup>aA</sup>	0.90±0.00 <sup>bcdA</sup>	0.90±0.00 <sup>abA</sup>
KS10	0.90±0.00 <sup>CA</sup>	0.90±0.00 <sup>abb</sup>	0.90±0.00 <sup>cdB</sup>	0.89±0.00 <sup>abcB</sup>
KS20	0.90±0.00 <sup>CA</sup>	0.89±0.00 <sup>cC</sup>	0.90±0.00 <sup>abcA</sup>	0.89±0.00 <sup>cb</sup>

(↓) Farklı küçük harflerle gösterilen sütündeki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

(→) Farklı büyük harflerle gösterilen satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

### *Oksidasyon redüksiyon potansiyeli analizi (ORP)*

Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin 10°C'de depolanmasında elde edilen ORP analiz sonuçları Çizelge 4'te verilmiştir. İlk depolama günü ORP değerleri  $-127.35 \pm 0.65$  ile  $-95.70 \pm 0.90$  arasında bulunmuştur. İlk depolama günü en düşük ORP değeri K grubunda tespit edilirken, diğer gruplarda genellikle benzer sonuçlar elde edilmiştir. Depolamanın 7. günü en düşük ORP değerleri KT10 ve KT20 grubunda benzer olarak bulunmuştur. Araştırmanın 7. günü tüm gruplarda ORP değeri ilk depolama günü sonuçlarına göre yükselmiştir. 14. günde en düşük ORP değerleri KT10, KS01 ve KS10 gruplarında benzer olarak bulunmuştur ( $p > 0.05$ ) ve genel olarak tüm gruplarda 7. güne kıyasla artış meydana gelmiştir. Son depolama gününde en düşük ORP değeri K grubunda tespit edilmiştir ve K grubuna kıyasla MO grubunun ORP değerinin daha yüksek olduğu bulunmuştur. Elde edilen bu veri Tenderis ve ark. (2020)'nin yaptığı sodyum laktat, polifosfatlar ve bunların kombinasyonlarının pişmiş kıymada *S. aureus* gelişimi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmanın sonuçlarıyla uyumaktadır (Tenderis ve ark., 2020). Bu bilgilere bakılarak *S. aureus* varlığının ORP değerini arttırdığı söylenebilir. Son depolama günü kamkat suyunun katıldığı gruplarda kamkat tozunun katıldığı gruplara göre daha yüksek ORP değerleri elde edilmiştir. İlk

depolama günü ile son depolama günü karşılaştırıldığında tüm gruplarda ORP değeri yükselmiştir. Karwowska ve Dolatowski (2007)'nin sığır etinde doğal antioksidanların oksidatif süreçler üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada çoğu deney grubunda ORP değerlerinin depolama süresince arttığı ortaya konulmuştur ve çalışmamızda elde edilen verilerle paralellik göstermektedir (Karwowska ve Dolatowski, 2007). Tenderis ve ark. (2020)'nin, sodyum laktat, polifosfatlar ve bunların kombinasyonlarının pişmiş kıymada *S. aureus* gelişimi üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada, son depolama gününde en yüksek ORP değerini kontrol grubunda bulunmuşlardır (Houser, 2004). Tenderis ve ark. (2021)'nin sodyum laktat ve polifosfatların işlenmiş kıymadaki *L. monocytogenes* ve *P. fluorescens* büyümesini araştırdıkları çalışmada ise her iki bakteri grubunda da depolamanın sonunda negatif kontrol ve mikroorganizma kontrol gruplarının daha yüksek ORP değerine sahip oldukları bulunmuştur (Tenderis ve ark., 2021). Bu çalışmaların verileri araştırmamızda elde edilen sonuçlarla uyumamaktadır. Bunun sebebin katılan maddelerin farklılığından ve farklı sıcaklık derecelerinde depolanmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Çizelge 4. Kamkat suyu/tozu ilave edilmiş ve *S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyma örneklerinin oksidasyon redüksiyon potansiyeli analizi (ORP) sonuçları (mV)

Table 4. Oxidation reduction potential analysis (ORP) results (mV) of cooked ground meat samples contaminated with *S. aureus*

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	$-127.35 \pm 0.65^{cD}$	$-31.75 \pm 1.05^{dB}$	$2.70 \pm 0.10^{aA}$	$-56.00 \pm 0.10^{fC}$
MO	$-110.30 \pm 15.70^{abcC}$	$-31.95 \pm 0.15^{dB}$	$-12.80 \pm 0.60^{cAB}$	$12.90 \pm 1.70^{cA}$
KT01	$-95.70 \pm 0.90^{aC}$	$-30.20 \pm 2.40^{cdB}$	$-17.25 \pm 3.55^{cdA}$	$-9.20 \pm 1.40^{dA}$
KT10	$-107.45 \pm 0.15^{abD}$	$-39.15 \pm 0.45^{eC}$	$-25.20 \pm 0.20^{eA}$	$-34.10 \pm 0.40^{eB}$
KT20	$-98.20 \pm 0.00^{aC}$	$-36.15 \pm 1.35^{eB}$	$-17.10 \pm 0.50^{cdA}$	$-37.30 \pm 1.60^{eB}$
KS01	$-118.60 \pm 0.00^{bcC}$	$-17.50 \pm 0.50^{bB}$	$-21.45 \pm 2.05^{deB}$	$38.10 \pm 0.80^{aA}$
KS10	$-105.90 \pm 0.00^{abC}$	$-26.85 \pm 1.35^{cB}$	$-25.95 \pm 0.15^{eB}$	$32.50 \pm 1.40^{bA}$
KS20	$-109.7 \pm 0.00^{abcd}$	$-12.75 \pm 1.05^{aC}$	$-7.1 \pm 0.80^{bB}$	$34.45 \pm 0.25^{abA}$

(↓) Farklı küçük harflerle gösterilen sütündeki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

(→) Farklı büyük harflerle gösterilen satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

*Staphylococcus aureus* sayımı

*S. aureus* ile kontamine edilmiş pişmiş kıyım örneklerinde kamkat suyu/tozunun *S. aureus* sayısı üzerindeki etkinliği ve elde edilen sonuçlar Çizelge 5'te verilmiştir. İlk depolama gününde K grubu dışında tüm gruplardaki *S. aureus* sayısı 4.22 ile 4.06 log kob/g arasında tespit edilmiştir ve deneme gruplarında hedeflenen *S. aureus* düzeyinde kontamine edilmiştir. Depolamanın 7. gününde K grubu hariç tüm gruplarda ilk güne göre *S. aureus* sayısında artış meydana gelmiştir ve en yüksek sayı (6.30 log kob/g) KT01 grubunda bulunurken, en düşük sayı KS20 (4.49 log kob/g) grubunda bulunmuştur. 14. günde K grubu hariç diğer gruplarda 7 güne kıyasla *S. aureus* sayısı genellikle artma eğilimi göstermiştir ve en düşük sayı KS20 grubunda bulunmuştur. Son depolama gününde en yüksek *S. aureus* sayısı MO grubunda bulunurken en düşük sayı KS20 grubunda bulunmuştur. 14. gün ile son depolama günü arasında KT20 ve KS10 grupları hariç *S. aureus* sayısı istatistiksel olarak sabit kalmıştır. Son depolama gününde MO grubuna kıyasla *S. aureus* sayısında en az düşüş 0.23 log ile KT10 grubunda bulunurken, en fazla düşüş 2.23 log ile KS20 grubunda olmuştur. KS20 grubu tüm depolama günlerinde en az *S. aureus* sayısı içeren grup olmuştur. Veriler ele alındığında *S. aureus* üzerindeki inhibisyon etkisinin aynı dozlarda eklenen kamkat sularının kamkat tozlarına göre

daha etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca kamkat suyu miktarının artması ile inhibisyon etkisinin de arttığı ortaya konulmuştur. Bunun nedeninin taze

kamkat suyunda uçucu bileşen (limonen, myrcene,  $\alpha$ -Pinen) miktarlarının kurutulma ile elde edilen kamkat tozuna göre daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Hsouna ve ark. (2017), narenciye limon esansiyel yağının kıyım etinde aşılınmış *L. monocytogenes*'e karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı çalışmada 4°C'de 6 günlük saklamanın ardından *L. monocytogenes* sayısının kontrol grubuna göre 2.5 log azaldığı ortaya konmuştur (Hsouna ve ark., 2017). Bingol ve ark. (2011), limon suyunun çiğ köftede *S. Enteritidis* ve *E. coli*'nin yaşama etkisini araştırdığı çalışmada limon suyunun her iki bakteri sayısında düşüşün sağlandığını ve limon suyu miktarının artmasıyla inhibisyon etkisinin arttığını ortaya koymuştur (Bingol ve ark., 2011). Eldahrawy ve ark. (2022) soğuk depolama sırasında kıyım kalitesinin iyileştirilmesinde limon ve portakal kabuğu tozlarının etkinliğini araştırdığı bir çalışmada, kıymalara yaklaşık olarak 2.5 log *S. aureus* ilave edildiği ve 12. günden itibaren portakal ve limon kabuğu tozu ilave edilen tüm gruplarda *S. aureus*'un tamamen inhibe olduğu bildirilmişlerdir (Eldahrawy ve ark., 2022). Yukarıda bahsedilen çalışmalarda narenciye sularının veya tozlarının gıdalarda mikrobiyal gelişime engel olduğu ve raf ömrünü uzattığı görülmüştür. Tüm bu veriler çalışma sonuçlarımızla uyum içerisindedir. Narenciyelerin gösterdiği bu aktimikrobiyal özelliğin kabuklarındaki fenolik bileşiklerden geldiği düşünülmektedir.

Çizelge 5. *S. aureus* sayım sonuçları (log kob/g)Table 5. *S. aureus* count results (log cfu/g)

Çalışma Grupları	Depolama (gün) Storage (day)			
	0	7	14	21
K	<2	<2	<2	<2
MO	4.10±0.10 <sup>aC</sup>	5.15±0.05 <sup>cB</sup>	6.40±0.10 <sup>aA</sup>	6.60±0.04 <sup>aA</sup>
KT01	4.13±0.13 <sup>aB</sup>	6.30±0.09 <sup>aA</sup>	6.28±0.07 <sup>aA</sup>	6.29±0.04 <sup>bA</sup>
KT10	4.13±0.04 <sup>aC</sup>	5.50±0.10 <sup>bB</sup>	6.30±0.10 <sup>aA</sup>	6.37±0.16 <sup>abA</sup>
KT20	4.19±0.02 <sup>aD</sup>	5.15±0.05 <sup>cC</sup>	5.70±0.20 <sup>bB</sup>	6.17±0.06 <sup>bA</sup>
KS01	4.22±0.04 <sup>aC</sup>	5.60±0.10 <sup>bB</sup>	6.41±0.04 <sup>aA</sup>	6.23±0.02 <sup>bA</sup>
KS10	4.18±0.01 <sup>aD</sup>	4.75±0.05 <sup>dC</sup>	5.34±0.07 <sup>aB</sup>	5.64±0.12 <sup>cA</sup>
KS20	4.06±0.06 <sup>aB</sup>	4.49±0.01 <sup>eA</sup>	4.60±0.10 <sup>dA</sup>	4.37±0.07 <sup>dA</sup>

(↓) Farklı küçük harflerle gösterilen sütundaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

(→) Farklı büyük harflerle gösterilen satırdaki değerler arasında istatistiksel olarak önemlidir.

## Sonuçlar

Et ve et ürünlerinin üretiminde, olgunlaşmasında, raf ömrünün uzatılmasında birçok sentetik ve doğal olarak antimikrobiyal maddeler kullanılmaktadır. Bu çalışma ile kamkat meyvesinin doğal bir koruyucu olarak antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. 10°C'de 21 gün boyunca pişmiş kıymada kamkat suyu/tozu ilavesinin *S. aureus* üzerinde gelişimi baskıladığı bulunmuştur. Bu etki özellikle %2 (w/w) kamkat suyu ilavesi yapılan grupta belirlenmiştir. Kamkat suyunun %1 (w/w) ve üzerindeki dozlarının et ürünlerinin işlenmesi veya depolanmasında meydana gelebilecek kontaminasyonları azaltmada etkili olabileceği ortaya konulmuştur. Çalışmada kullanılan dozlar, ürünün tat ve koku gibi duyuşsal niteliklerini etkilemesi ihtimali düşünülerek belirlenmiştir. Kamkat suyunun yüksek dozlarda gıdalarda kullanımı *S. aureus* sayısını azaltabileceği ancak kullanılacak bu yüksek doza bağlı olarak ürünün duyuşsal özelliklerini olumsuz yönde etkileyebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır. Sonuç olarak kamkat suyunun gıdalarda sentetik maddelerin yerine kullanılabilir sağlıklı, ucuz ve kolay temin edilebilir yeni doğal bir koruyucu olarak uygulanabilme potansiyeline sahiptir.

**Çıkar Çatışması:** Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması bulunmadığını beyan ederler.

ederler.

**Yazar Katkısı:** Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

## Kaynaklar

Abdulahman, L. S., Stanley, A., Wells, H., & Fakhr, M. K. (2015). Isolation, virulence, and antimicrobial resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA) strains from Oklahoma retail poultry meats. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6), 6148-6161.

Ağaoğlu, S., Dostbil, N., & Alemdar, S. (2007). Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 51, 53-57.

Akçelik, M., Ayhan, K., Çakır, İ., Doğan, H. B., Gürgün, V., Halkman, A. K., & Tükel, Ç. (2000). Gıda mikrobiyolojisi ve uygulamaları. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Gıda Müh. Böl, 2.

Banerjee, R., Verma, A. K., Das, A. K., Rajkumar, V., Shewalkar, A. A., Narkhede, H. P. (2012). Antioxidant effects of broccoli powder extract in goat meat nuggets. *Meat Science*, 91(2), 179-184.

Ben Hsouna, A., Ben Halima, N., Smaoui, S., & Hamdi, N. (2017). Citrus lemon essential oil: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. *Lipids in Health and Disease*, 16, 1-11.

Bingol, B. E., Cetin, O., & Muratoglu, K. (2011). Effect of lemon juice on the survival of *Salmonella* Enteritidis and *Escherichia coli* in cig kofte (raw meatball). *British Food Journal*, 113(9), 1183-1194.

Bouchard, D.S., Rault, L., Berkova, N., Le Loir, Y., & Even, S. (2013). Inhibition of *Staphylococcus aureus* invasion into bovine mammary epithelial cells by contact with live *Lactobacillus casei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(3), 877-885.

Çemtekin, B., Kılınc, E., Karabacak, L., Dağtekin, T., Tiryaki, T., Soyuçok, A., & Kılıç, B. (2019). An evaluation of guelder rose (*Viburnum opulus* L.) and hawthorn (*Crataegus monogyna*) concentrates as alternative antioxidant sources to BHT and nitrite in poultry meat model system. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, 62(2).

Eldahrawy, M., Salem, A. M., & Nabil, M. (2022). The efficiency of citrus peel powders in improvement of meat quality during chilled storage. *Benha Veterinary Medical Journal*, 42(2), 208-213.

Gedikoğlu, A., & Clarke, A. D. (2019). Quality attributes of citrus fiber added ground beef and consumer acceptance of citrus fiber added Turkish meatballs. *Food and Health*, 5(4), 205-214.

Gül, E. N., Altuntaş, E., & Öcalan, O. N. (2021). Nagami Çeşidi Kamkat Meyvelerinin Fiziko-Mekanik Karakteristikleri ile Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 8(4), 1064-1072.

Houser, T. A. (2004). Quality characteristics of irradiated ready-to-eat meats. Iowa State University.

Karwowska, M., & Dolatowski, Z. J. (2007). The effect of natural antioxidants on the oxidative processes in beef. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 6(1), 17-25.

Kim, D. S., Lee, S., Park, S. M., Yun, S. H., Gab, H. S., Kim, S. S., & Kim, H. J. (2021). Comparative metabolomics analysis of citrus varieties. *Foods*, 10: 1-15.

Küplülü, Ö. (2002). Pastörize sütlerde ELISA tekniği ile stafilkokal enterotoksin varlığının belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26(3), 631-637.

Lambert, R. J. W., Skandamis, P. N., Coote, P. J., & Nychas, G. J. (2001). A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, 91(3), 453-462.

Lee, S. U. (2017). Analysis of *Kudoa septempunctata* as a cause of foodborne illness and its associated differential diagnosis, *Epidemiology and Health*, 39.

- Mexis, S. F., Chouliara, E., & Kontominas, M. G. (2012). Shelf life extension of ground chicken meat using an oxygen absorber and a citrus extract. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 49(1), 21-27.
- Mørk, T., Kvitle, B., & Jørgensen, H. J. (2012). Reservoirs of *Staphylococcus aureus* in meat sheep and dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 155(1), 81-87.
- Nuray, C., & Badayman, M. (2022). Kamkatın muhafazası ve çeşitli gıdaların üretiminde kullanımı. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1), 36-44.
- Robertson, J. A., de Monredon, F. D., Dysseler, P., Guillon, F., Amado, R., & Thibault, J. F. (2000). Hydration properties of dietary fibre and resistant starch: a European collaborative study. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 33(2), 72-79.
- Sadek, E. S., Makris, D. P., & Kefalas, P. (2009). Polyphenolic composition and antioxidant characteristics of kumquat (*fortunella margarita*) peel fractions. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64, 297-302.
- Tenderis, B., Kılıç, B., Yalçın, H., & Şimşek, A. (2020). Impact of sodium lactate, encapsulated or unencapsulated polyphosphates and their combinations on *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157: H7 and *Staphylococcus aureus* growth in cooked ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 321, 108560.
- Tenderis, B., Kılıç, B., Yalçın, H., & Şimşek, A. (2021). Controlling growth of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas fluorescens* in thermally processed ground beef by sodium lactate, encapsulated or unencapsulated polyphosphates incorporation. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 144, 111169.
- Turgut, D. Y., Gölükcü, M., & Tokgöz, H. (2015). Kamkat (*Fortunella margarita* Swing.) meyvesi ve reçelinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Derim*, 32(1), 71-80.
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernández-López, J., & Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Effect of added citrus fibre and spice essential oils on quality characteristics and shelf-life of mortadella. *Meat Science*, 85(3), 568-576.
- Wyness, L. (2016). The role of red meat in the diet: nutrition and health benefits. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(3), 227-232.





# The Effects of *Laurus nobilis* L. and *Lavandula stoechas* L. Essential Oils on Oxidative Stabilities of Sunflower and Olive Oils during Accelerated Storage

## *Laurus nobilis* L. ve *Lavandula stoechas* L. Esansiyel Yağlarının Hızlandırılmış Depolama Sırasında Ayçiçeği ve Zeytinyağlarının Oksidatif Stabiliteleri Üzerine Etkileri

Özge YÜZEREROĞLU<sup>1\*</sup>  Aslı YORULMAZ<sup>2\*</sup> ,

<sup>1-2</sup> Aydın Adnan Menderes University, Faculty of Engineering, Department of Food Engineering, Aydın

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0002-2309-2943>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-4446-6585>

### To cite this article:

Yüzereroğlu, Ö. & Yorulmaz, A. (2024). The Effects of *Laurus nobilis* L. and *Lavandula stoechas* L. Essential Oils on Oxidative Stabilities of Sunflower and Olive Oils during Accelerated Storage. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 28(4): 700-710

DOI: 10.29050/harranziraat.1514855

### \*Address for Correspondence:

Aslı YORULMAZ

e-mail:

asliyorulmaz@adu.edu.tr

### Received Date:

11.07.2024

### Accepted Date:

06.12.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

The study aimed to investigate the effects of *Laurus nobilis* L (Laurel) and *Lavandula stoechas* L. (French lavender) essential oils on the oxidative stabilities of sunflower oil and olive oils. For this purpose, 500 and 1000 ppm of laurel and French lavender essential oils were incorporated into sunflower and olive oil samples. The oil samples were stored at 60°C for 12 days and analyzed every four days. During the storage period, free acidity and peroxide values, K232 and K270 values, and fatty acid profiles of the samples were monitored. The results showed that free fatty acids, peroxide and K232 values increased during storage. It was determined that the essential oils used in the study did not have an effect on free fatty acid formation for either type of oil. However, the enrichment with essential oils had slight positive effects on the stability of sunflower oil. Additionally, laurel and French lavender essential oils were determined to suppress the peroxide formation on the 4th and 8th days of storage of olive oil. A similar pattern was also observed for K232 values. K270 values of the oil samples enriched with essential oils generally showed a decreasing trend and this decreasing tendency was found to be clearer for olive oil. The major fatty acid in sunflower oil was linoleic acid, which ranged from 61.99 and 62.65%. Oleic acid, the main fatty acid of olive oil samples, covered 67.31-69.37% of the fatty acids. Statistically significant changes were observed in the fatty acid composition of oils during accelerated storage.

**Key Words:** *Laurus nobilis* L., *Lavandula stoechas* L., French Lavender Essential Oil, Laurel Essential Oil, Olive Oil

### ÖZ

Bu çalışmanın amacı *Laurus nobilis* L. (Defne) ve *Lavandula stoechas* L. (Karabaş otu) esansiyel yağlarının ayçiçek yağı ve zeytinyağının oksidatif stabiliteleri üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Bu amaçla ayçiçeği ve zeytinyağı örneklerine 500 ve 1000 ppm defne ve Karabaş otu esansiyel yağları eklenmiştir. Yağ örnekleri 60°C'de 12 gün saklanmış ve her dört günde bir analiz edilmiştir. Depolama süresince örneklerin serbest asitlik ve peroksit değerleri, K232 ve K270 değerleri ile yağ asidi profilleri izlenmiştir. Sonuçlar depolama süresince serbest yağ asitleri miktarının, peroksit ve K232 değerlerinin arttığını göstermiştir. Esansiyel yağ ilavesinin, her iki yağ türü için de serbest yağ asitliği oluşumunu baskılamadığı bulgulanmıştır. Ancak esansiyel yağlarla zenginleştirmenin ayçiçek yağının stabilitesi üzerinde hafif olumlu etkileri olmuştur.

Ayrıca Defne ve Karabaş otu esansiyel yağlarının zeytinyağında depolamanın 4. ve 8. günlerinde peroksit oluşumunu baskıladığı belirlenmiştir. Benzer durum K232 değerlerinde de gözlenmiştir. Esansiyel yağlarla zenginleştirilen yağ örneklerinin K270 değerleri genel olarak azalma eğilimi göstermiş ve bu azalma eğiliminin zeytinyağında daha belirgin olduğu görülmüştür. Ayçiçeği yağında temel yağ asidi %61,99-62,65 arasında değişen linoleik asit olarak belirlenmiştir. Zeytinyağı örneklerinin temel yağ asidi olan oleik asit, yağ asitlerinin %67,31-69,37'sini kapsamaktadır. Hızlandırılmış depolama sırasında yağların yağ asidi bileşiminde istatistiki olarak önemli değişiklikler gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** *Laurus nobilis* L., *Lavandula stoechas* L., Karabaş Otu Esansiyel Yağı, Defne Esansiyel Yağı, Zeytinyağı

## Introduction

Lipid oxidation is a critical reaction affecting the quality and shelf-life of oils during processing and storage (Maszewska et al., 2018). It both causes undesirable changes in smell, appearance as well as texture of oil containing foods and it causes the loss of fat-soluble vitamins and bioactive components. Lipid oxidation may even play a role in forming compounds potentially toxic to humans (Yang et al., 2016; Shahidi and Zhong, 2010). Heat, light, heavy metal ions and oxygen play a role in the occurrence of oxidation. The primary products of lipid oxidation are hydroperoxides, whereas the secondary products are aldehydes, ketones, alcohols, hydrocarbons, furans and acids. Among these volatile compound groups, especially aldehydes cause the formation of undesirable taste and aroma. Several attempts were carried out to completely prevent or retard lipid oxidation reactions. Among these methods, a huge number of them focused on minimizing oxygen levels and light exposure, preventing metal contamination and using different natural and synthetic antioxidants (Çalık, 2017; Ulaş, 2015).

Synthetic antioxidants are generally used to prevent oxidation. The most preferred synthetic antioxidants are butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxy toluene (BHT) and tertiary butyl hydroquinone (TBHQ) (Shahidi, 2000; Frankel, 2007). Concerns about the possible adverse effects of synthetic antioxidants on human health have pushed manufacturers to use alternative natural antioxidant sources. Some studies have reported that natural antioxidants are more effective than synthetic antioxidants (Carvalho et al., 2005). Lately, different extracts originating from various parts of plants, especially herbs and spices (rosemary extracts, tea, sage,

lavender, thyme, carob, barley seeds, etc.) have become popular in preventing lipid oxidation reactions (Marmesat et al., 2010).

Essential oils are aromatic, volatile substances extracted from plant materials including leaves, buds, fruits, flowers, herbs, branches, bark, roots and seeds with different methods. Essential oils consist of approximately 20-60 aromatic compounds, which give the oil a characteristic odour and aroma (Arora et al., 2015). Essential oils are generally liquid at room temperature and have a lower density than water. They have limited solubility in water and are highly soluble in organic solvents (Chahal et al., 2017). Essential oil content may vary depending on the source from which the plant is obtained, and the fraction obtained from the plant. In addition, the yield of the essential oil varies depending on genetic characteristics, environmental conditions, maturation status and applied extraction conditions such as steam distillation, hydro distillation and Soxhlet extraction (Woolf, 1999). Lipid oxidation-preventive properties of essential oils were well-documented in a few studies in the literature (Causevic et al., 2023; Meng et al., 2021; Wang et al., 2019; Tohma and Turan, 2015; Asensio et al., 2011).

The laurel plant (*Laurus nobilis* L.) is one of the plants of which essential oil can be used as an antioxidant source. Laurel, a plant from the Lauralee family, is an evergreen shrub native to the Mediterranean region. The antioxidant property of the laurel plant was attributed to its eugenol and methyl eugenol content. The essential oil obtained from the bay plant is used as a flavoring in the food industry. The dominant components of laurel essential oil were determined as 1,8-cineol,  $\alpha$ -terpinene and sabinene (Turhan and Tural, 2017).

French Lavender (*Lavandula stoechas* L.) is an

evergreen shrub that can grow up to one meter high, often with violet flowers. The essential oil extracted from *Lavandula stoechas* represents 0.1-3% of the dry weight and contains monoterpenoids and sesquiterpenoids (Hassiotis, 2010). Essential oil is extracted from the above-ground parts of the plant (stems, leaves and flowers) by steam distillation (Carrasco et al., 2015; Angioni et al., 2006; Dob et al., 2006). Monoterpenes, fencen (33-37%) and camphor (16-24%) were reported to be the main components of *Lavandula stoechas* L. essential oil (Carrasco et al., 2015; Kırmızıbekmez et al., 2009; Angioni et al., 2006).

Different food processing stages may reduce the resistance of edible oils against oxidation, and this situation brings the necessity of taking precautions to protect the stability of the oils. Within the scope of the current study, *Laurus nobilis* L. and *Lavandula stoechas* L. essential oils were incorporated into sunflower and olive oils at two concentrations (500 and 1000 ppm) and stored at 60°C. The concentrations of the essential oils were decided based on a similar former work (Ataei and Solemanpour, 2019). The changes in quality parameters and fatty acid profiles were monitored throughout the accelerated storage, to observe the potential of these essential oils as natural antioxidants.

## Materials and Methods

### Material

The sunflower and olive oils used in the study were purchased from local markets; *Laurus nobilis* L. and *Lavandula stoechas* L. essential oils were obtained from Tabia Pure Nature Company, Turkey. Essential oils were produced using the supercritical carbon dioxide extraction technique.

Among the standards and solvents used during the analyses; isooctane, diethyl ether, ethyl alcohol, hydrochloric acid, methanol, sodium hydroxide, and methyl orange were obtained from Sigma-Aldrich (St-Louis, USA). Acetic acid, *n*-hexane, chloroform, potassium iodide, starch, sodium thiosulfate, potassium hydroxide, and

phenolphthalein were purchased from Merck (Darmstadt, Germany).

## Methods

### Accelerated Stability Test

*Laurus nobilis* L. and *Lavandula stoechas* L. essential oils were incorporated to sunflower and olive oils at two different concentrations (500 and 1000 ppm). The control samples did not contain any essential oils. For this test, 50 mL of each oil sample was kept in dark glass bottles with a volume of 150 ml, in the presence of air and without the presence of light in a laboratory scale oven (Memmert, Germany). The sunflower and olive oil samples were stored at 60°C for 12 days. All samples were analyzed every four days in terms of their free fatty acidity, peroxide,  $K_{232}$ , and  $K_{270}$  values, and fatty acid profiles.

### Determination of Quality Parameters

Free fatty acidity, peroxide value, and UV spectrophotometric absorbances at 232 and 270 nm were determined according to AOCS Ca 5a-40, AOCS Cd 8-53 and AOCS Ch 5-91 Official Methods (AOCS, 2003) respectively.

### Fatty Acid Composition

The fatty acid methyl esters were prepared according to the method offered by the International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC, 1987). The methyl esters were analyzed using a gas chromatograph (GC 2010, Shimadzu, Kyoto, Japan) equipped with a flame ionization detector. DB-23 fused silica capillary column (60 m, 0,25 mm internal diameter and 0,25  $\mu$ m film thickness, J&W Scientific, ABD) was utilized to elute the peaks. Injector, detector and column temperatures were set at 230, 240 and 190 °C in the same order. Nitrogen was the carrier gas with a flow rate of 0.8 ml/min. Split ratio was 80:1.

### Statistical Evaluation

The data obtained were statistically evaluated using the SPSS 15.0 packaged software (SPSS Inc., Chicago, USA). All productions were replicated

twice and all the measurements were replicated twice. The difference between group averages was determined using the analysis of variance technique (ANOVA). The significance level of the difference was determined by the Duncan multiple comparison test. A  $p$ -value of less than 0.05 was considered as significant.

## Results and Discussions

The free fatty acid level, which is an indicator of hydrolysis of triglycerides, was examined during the storage of sunflower and olive oil samples at 60°C and the obtained results were given in Table 1 and Table 2. The free acidity of control sunflower oil sample was 0.12% at the beginning and it gradually increased during storage and reached 0.18% at the end of the 12th day ( $p<0.05$ ). Similar increases were also reported by Tan et al. (2017) for palm oil stored at 60°C. The increase in acidity is attributed to the degradation of triglycerides because of the high temperature (Choe ve Min, 2007). The inclusion of different essential oils at different levels was not found to suppress the formation of free fatty acids during storage. The comparable increasing trend in the free acidity was also determined for olive oil samples. While the free fatty acid content of the olive oil sample was initially 0.26%, the amount of the free fatty acids increased slightly and reached 0.32% at the end of the storage period. The enrichment of olive oil samples with *L. nobilis* L. and *L. stoechas* L. essential oils at different levels had not a vigorous effect on delaying the hydrolysis reaction.

Peroxide value (PV) is an index of hydroperoxide concentration in the oil and is affected by the factors that promote oxidation such as oxygen, light and temperature. The changes in peroxide values of sunflower and olive oils during accelerated storage conditions was also given in Table 1 and Table 2. The peroxide values of all oils increased gradually and significantly throughout the storage period, as was also shown in a previous similar study (Mulagić et al., 2020). The peroxide value of the

control sunflower oil sample was 2.01 mEq O<sub>2</sub>/kg oil at the beginning and reached 137.33 mEq O<sub>2</sub>/kg oil at the end of 12 days of storage ( $p<0.05$ ). The addition of laurel essential oil had slight and significant positive effects on PV of the sunflower oils. Nevertheless, different concentrations of laurel essential oil did not have an effect proportional to its concentration. The addition of French lavender essential oil at 1000-ppm level had slight positive effects on PV of sunflower oils during the storage period.

The peroxide value of the control olive oil sample was 4.71 mEq O<sub>2</sub>/kg oil at the beginning and was found to rise to 77.50 mEq O<sub>2</sub>/kg oil at the end of the period ( $p<0.05$ ). Laurel and French lavender essential oils were determined to suppress the peroxide formation on the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> days of storage; however, the same positive effect was not observed on the 12<sup>th</sup> day. Essential oils are susceptible to degradation under heat (Mahanta et al., 2021), and Laurel and French lavender essential oils may have lost their efficiency at the last day of accelerated stability test.

Specific absorption values (K<sub>232</sub> and K<sub>270</sub>) in ultraviolet light are indicators of the oxidative stability of oils, and these parameters increase as the oxidation level of the oil increases. The changes in K<sub>232</sub> values of sunflower and olive oils during accelerated storage are given in Table 1 and 2. The K<sub>232</sub> values of all oils increased significantly throughout the storage ( $p<0.05$ ). While the K<sub>232</sub> value of the control sample (sunflower oil) at the beginning was 2.50, it reached 18.61 at the end of the 12-day storage period. The start and end values were recorded as 3.05 and 8.06 for control sample of olive oil. The enrichment of sunflower oil by the essential oils had slight positive effects on preventing the increase in K<sub>232</sub> values without regard to the concentration level ( $p<0.05$ ). However, the similar effect was not observed in the case of olive oil. Laurel and French lavender essential oils were determined to influence K<sub>232</sub> value positively on the 4<sup>th</sup> and 8<sup>th</sup> days of storage, like the peroxide value pattern. The same oxidation-preventive

effect was not observed on the 12th day. Aysel et al. (2013) previously reported preventive effects of mixture of organum and rosemary on the oxidative stability of soybean oil.

The changes in  $K_{270}$  values of sunflower and olive oils during accelerated storage were given in Table 1 and 2. The results show that  $K_{270}$  values of all samples enriched with essential oils generally showed a decreasing trend during storage at 60°C. This decreasing tendency was more pronounced for olive oil. Similarly, Wang et al. (2018) stated that the addition of *Coriandrum sativum* L. essential oil to sunflower oil suppressed the increase in  $K_{232}$  and  $K_{270}$  values, and this was due to the inhibition of the formation of conjugated dienes and trienes.  $K_{270}$  values of the samples did not exceed the specific absorption E (270 nm) value ( $\leq 1.15$ ) determined for olive oil in ultraviolet light according to the TGK Olive Oil and Pomace Oil Communiqué. Taoudiat et al. (2018) reported in their study that the addition of *Laurus nobilis* L. essential oil to olive oil did not significantly affect the  $K_{232}$  value but suppressed the increase in the  $K_{270}$  value.

The change in the fatty acid composition of sunflower oil samples enriched with essential oils during storage at 60°C is given in Table 3. The main fatty acid was linoleic acid, covering 62.19% of all fatty acids in the control sample. The lowest linoleic acid level (61.99%) was detected on the 8th day in the samples enriched with 500 ppm *L. nobilis* L. The highest level (62.65%) was detected on the 8th day in the samples enriched with 1000 ppm *L. stoechas* L.

The second abundant fatty acid was oleic acid, which ranged from 27.46-28.94%, and it was found to be 28.90% in the control sample at the 0th day. The highest (28.94%) and the lowest (27.46%) values were detected on the 8th day in the sample enriched with 1000 ppm *L. stoechas* L., and on the 0th day in the sample enriched with 500 ppm *L. stoechas* L. Statistically significant changes in oleic acid levels were observed during the storage period ( $p < 0.05$ ). Similar former works have reported significant changes in fatty acid profile of sunflower oils enriched with different concentrations of *Coriandrum sativum* L. (Wang et al., 2018).

Table 1. The quality parameters of sunflower oils enriched with essential oils during accelerated storage

Quality Parameters	Treatment	Storage time (Day)			
		0	4	8	12
FFA (%)	Control	0.12±0.0 <sup>A,a</sup>	0.17±0.0 <sup>B,b</sup>	0.17±0.0 <sup>B,c</sup>	0.18±0.0 <sup>AB,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	0.12±0.0 <sup>A,a</sup>	0.16±0.0 <sup>A,b</sup>	0.17±0.0 <sup>A,c</sup>	0.18±0.0 <sup>A,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	0.12±0.0 <sup>A,a</sup>	0.16±0.0 <sup>A,b</sup>	0.17±0.0 <sup>A,c</sup>	0.18±0.0 <sup>A,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	0.13±0.0 <sup>A,a</sup>	0.17±0.0 <sup>B,b</sup>	0.17±0.0 <sup>B,c</sup>	0.18±0.0 <sup>B,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	0.12±0.0 <sup>A,a</sup>	0.17±0.0 <sup>B,b</sup>	0.17±0.0 <sup>B,c</sup>	0.18±0.0 <sup>B,d</sup>
	PV (mEq O <sub>2</sub> /kg oil)	Control	2.01±0.1 <sup>A,a</sup>	41.94±0.7 <sup>D,b</sup>	83.68±0.7 <sup>D,c</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)		1.87±0.1 <sup>A,a</sup>	39.03±0.2 <sup>B,b</sup>	78.51±0.7 <sup>B,c</sup>	128.23±0.8 <sup>A,d</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)		1.88±0.1 <sup>A,a</sup>	40.37±1.0 <sup>C,b</sup>	81.07±1.0 <sup>C,c</sup>	131.14±0.8 <sup>B,d</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)		1.89±0.1 <sup>A,a</sup>	37.62±0.6 <sup>A,b</sup>	84.44±0.8 <sup>D,c</sup>	134.82±0.8 <sup>C,d</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)		1.89±0.1 <sup>A,a</sup>	37.83±0.4 <sup>A,b</sup>	72.81±1.4 <sup>A,c</sup>	131.61±0.7 <sup>B,d</sup>
$K_{232}$		Control	2.50±0.0 <sup>A,a</sup>	7.26±0.0 <sup>E,b</sup>	12.59±0.1 <sup>C,c</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	2.67±0.1 <sup>B,a</sup>	7.09±0.1 <sup>D,b</sup>	10.83±0.0 <sup>A,c</sup>	17.70±0.0 <sup>A,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	2.70±0.0 <sup>B,a</sup>	6.84±0.1 <sup>C,b</sup>	11.30±0.0 <sup>B,c</sup>	17.89±0.0 <sup>B,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	2.76±0.0 <sup>C,a</sup>	6.50±0.1 <sup>A,b</sup>	12.69±0.1 <sup>D,c</sup>	18.24±0.1 <sup>D,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	2.80±0.0 <sup>C,a</sup>	6.71±0.0 <sup>B,b</sup>	10.83±0.0 <sup>A,c</sup>	18.06±0.1 <sup>C,d</sup>
	$K_{270}$	Control	3.20±0.0 <sup>AB,b</sup>	3.25±0.0 <sup>B,b</sup>	2.70±0.1 <sup>A,a</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)		3.20±0.0 <sup>AB,ab</sup>	3.29±0.0 <sup>C,c</sup>	3.23±0.0 <sup>C,b</sup>	3.18±0.0 <sup>AB,a</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)		3.18±0.0 <sup>A,a</sup>	3.19±0.0 <sup>A,a</sup>	3.18±0.0 <sup>C,a</sup>	3.18±0.0 <sup>AB,a</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)		3.21±0.0 <sup>BC,b</sup>	3.29±0.0 <sup>C,c</sup>	3.36±0.0 <sup>D,d</sup>	3.15±0.0 <sup>A,a</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)		3.24±0.0 <sup>C,c</sup>	3.36±0.0 <sup>D,d</sup>	2.89±0.1 <sup>B,a</sup>	3.15±0.0 <sup>A,b</sup>

Uppercase letters show significant differences in each treatment and lowercase letters show significant differences in storage time, at  $p < 0.05$

Table 2. The quality parameters of olive oils enriched with essential oils during accelerated storage

Quality Parameter	Treatment	Storage time (Day)			
		0	4	8	12
FFA (%)	Control	0.26±0.0 <sup>A,a</sup>	0.29±0.0 <sup>A,b</sup>	0.31±0.0 <sup>AB,c</sup>	0.32±0.0 <sup>AB,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	0.26±0.0 <sup>A,a</sup>	0.29±0.0 <sup>A,b</sup>	0.30±0.0 <sup>A,c</sup>	0.33±0.0 <sup>B,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	0.29±0.0 <sup>B,a</sup>	0.31±0.0 <sup>C,b</sup>	0.31±0.0 <sup>B,b</sup>	0.33±0.0 <sup>B,c</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	0.26±0.0 <sup>A,a</sup>	0.30±0.0 <sup>B,b</sup>	0.31±0.0 <sup>AB,b</sup>	0.32±0.0 <sup>AB,c</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	0.29±0.0 <sup>B,a</sup>	0.30±0.0 <sup>BC,b</sup>	0.31±0.0 <sup>B,c</sup>	0.32±0.0 <sup>A,c</sup>
PV (mEq O <sub>2</sub> /kg oil)	Control	4.71±0.1 <sup>C,a</sup>	13.16±0.5 <sup>B,b</sup>	61.00±2.3 <sup>A,c</sup>	77.50±0.9 <sup>A,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	4.23±0.1 <sup>B,a</sup>	12.47±0.2 <sup>A,b</sup>	52.37±5.9 <sup>C,c</sup>	79.72±1.6 <sup>A,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	4.18±0.1 <sup>B,a</sup>	12.18±0.2 <sup>A,b</sup>	43.28±1.2 <sup>A,c</sup>	81.46±5.7 <sup>A,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	3.93±0.1 <sup>A,a</sup>	12.22±0.5 <sup>A,b</sup>	48.65±1.6 <sup>B,c</sup>	96.69±1.5 <sup>C,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	4.18±0.1 <sup>B,a</sup>	12.36±0.4 <sup>A,b</sup>	41.77±0.5 <sup>A,c</sup>	91.79±4.3 <sup>B,d</sup>
K <sub>232</sub>	Control	3.05±0.1 <sup>B,a</sup>	3.95±0.1 <sup>C,b</sup>	7.06±0.1 <sup>C,c</sup>	8.06±0.1 <sup>A,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	3.16±0.0 <sup>C,a</sup>	3.92±0.1 <sup>C,b</sup>	7.00±0.1 <sup>C,c</sup>	8.09±0.1 <sup>A,d</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	3.11±0.0 <sup>BC,a</sup>	3.71±0.1 <sup>A,b</sup>	5.92±0.1 <sup>B,c</sup>	9.57±0.1 <sup>B,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	2.95±0.1 <sup>A,a</sup>	3.75±0.1 <sup>AB,b</sup>	6.15±0.1 <sup>B,c</sup>	11.16±0.1 <sup>D,d</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	3.07±0.0 <sup>B,a</sup>	3.87±0.1 <sup>BC,b</sup>	5.49±0.1 <sup>A,c</sup>	10.02±0.2 <sup>C,d</sup>
K <sub>270</sub>	Control	0.77±0.0 <sup>B,a</sup>	0.78±0.0 <sup>C,a</sup>	0.66±0.0 <sup>B,b</sup>	0.60±0.0 <sup>A,a</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	0.70±0.0 <sup>A,b</sup>	0.74±0.0 <sup>B,c</sup>	0.60±0.0 <sup>A,a</sup>	0.59±0.0 <sup>A,a</sup>
	<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	0.80±0.0 <sup>C,d</sup>	0.63±0.0 <sup>A,b</sup>	0.75±0.0 <sup>C,c</sup>	0.56±0.0 <sup>A,a</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	0.87±0.0 <sup>D,c</sup>	0.74±0.0 <sup>B,b</sup>	0.72±0.0 <sup>C,b</sup>	0.60±0.0 <sup>A,a</sup>
	<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	0.78±0.0 <sup>B,c</sup>	0.93±0.0 <sup>E,d</sup>	0.74±0.0 <sup>C,b</sup>	0.64±0.0 <sup>B,a</sup>

Uppercase letters show significant differences in each treatment and lowercase letters show significant differences in storage time, at  $p < 0.05$

Palmitic acid was the major saturated fatty acid of sunflower oil samples. While it was found to be 5.29% in the control sample at the beginning of storage, it varied between 4.93-5.32% in the other samples. The lowest value was detected on the 12th day in the sample enriched with 1000 ppm *L. stoechas* L. The highest value was detected on 0th day in the sample enriched with 1000 ppm *L. nobilis* L. Palmitic acid ratios were rarely affected statistically by the addition of essential oils.

Stearic acid was another saturated fatty acid in sunflower oil samples. It was found to be 2.67% in the control sample at the beginning of storage, whereas it had values varying from 2.32-2.72% in samples stored for different periods of time. Additionally, palmitoleic, heptadecanoic, heptadecenoic and linolenic acids were detected in oil samples. Palmitoleic acid level varied in 0.29-0.54%; whereas heptadecanoic, heptadecenoic and linolenic acid levels varied in 0.01-0.03%; 0.01-0.02% and 0.60-2.06%, respectively.

The change in the fatty acid composition of

olive oil samples enriched with laurel and French lavender essential oils during storage at 60°C is given in Table 4. The main fatty acid was oleic acid covering 67.31% of all fatty acids of the control sample at the beginning of storage. The lowest oleic acid ratio (67.31%) was detected in the control sample and the highest level (69.37%) was detected on the 8th day in the control samples. Oleic acid levels were observed to fluctuate during the storage period. No common attitude for the change in oleic acid levels was detected towards the accelerated storage and by the addition of different levels of essential oils.

The second abundant fatty acid of olive oil samples was linoleic acid, varying in 14.28-16.42%. The lowest value was determined after 8 days of storage in the control sample, and the highest value was determined in the sample enriched with 1000 ppm laurel essential oil.

The third dominant fatty acid in olive oil was palmitic acid. While the palmitic acid level was 11.63% in the sample that was not stored; it varied among 11.43-12.10% in the samples stored for different periods of time and with different

amounts of added essential oil. The lowest value was determined in olive oil samples to which 1000 ppm French lavender essential oil was added, before the storage process was carried out. The highest value was detected in the sample to which 1000 ppm laurel essential oil was added at the end of the 4th day. It was also determined that the essential oil level did not cause a statistically significant difference in all samples. In addition, the presence of palmitoleic, heptadecanoic, heptadecenoic, stearic and linolenic acids was detected in olive oil samples. Palmitoleic and stearic acid levels were very close to each other. While palmitoleic acid varied

between 1.68% and 1.95%, stearic acid level was determined between 1.67% and 1.82%. The levels of heptadecanoic, heptadecenoic and linolenic acids varied from 0.03-0.04, 0.06-0.09% and 0.80-1.24%, respectively. In the study of Arcoleo et al. (2009), cold-pressed lemon essential oil was used to preserve the shelf life and sensory profile of extra virgin olive oil. The effects of lemon oil added between 0.4-0.8% were observed for 10 months. It was found that although olive oils with lemon oil had higher oxidative stabilities; the addition of lemon oil did not reveal a significant difference in fatty acid composition.

Table 3. The fatty acid composition of sunflower oils enriched with essential oils during accelerated storage (%)

Oil sample	Day	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Control	0	5.29±0.0 <sup>A,c</sup>	0.29±0.1 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,b</sup>	2.67±0.1 <sup>AB,a</sup>	28.90±0.1 <sup>B,a</sup>	62.19±0.1 <sup>A,a</sup>	0.63±0.2 <sup>A,a</sup>
	4	5.11±0.0 <sup>A,bc</sup>	0.42±0.1 <sup>A,b</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,ab</sup>	2.61±0.0 <sup>A,a</sup>	28.72±0.1 <sup>A,a</sup>	62.13±0.1 <sup>A,a</sup>	1.00±0.1 <sup>A,b</sup>
	8	5.22±0.2 <sup>A,ab</sup>	0.38±0.1 <sup>A,ab</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,ab</sup>	2.65±0.2 <sup>A,a</sup>	28.66±0.4 <sup>A,a</sup>	62.07±0.3 <sup>A,a</sup>	0.99±0.3 <sup>A,b</sup>
	12	5.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.48±0.0 <sup>A,b</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.39±0.0 <sup>A,b</sup>	27.96±0.2 <sup>B,b</sup>	62.29±0.2 <sup>A,a</sup>	1.84±0.1 <sup>A,c</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	0	5.14±0.1 <sup>B,b</sup>	0.42±0.0 <sup>B,a</sup>	0.02±0.0 <sup>AB,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.58±0.1 <sup>A,a</sup>	28.55±0.1 <sup>A,a</sup>	62.29±0.3 <sup>A,a</sup>	0.99±0.1 <sup>B,a</sup>
	4	5.15±0.1 <sup>A,b</sup>	0.38±0.1 <sup>A,a</sup>	0.02±0.0 <sup>AB,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.65±0.1 <sup>A,a</sup>	28.54±0.3 <sup>A,a</sup>	62.18±0.1 <sup>A,a</sup>	1.07±0.4 <sup>A,a</sup>
	8	5.17±0.1 <sup>A,b</sup>	0.44±0.1 <sup>AB,a</sup>	0.02±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,ab</sup>	2.63±0.1 <sup>A,a</sup>	28.57±0.4 <sup>A,a</sup>	61.99±0.4 <sup>A,a</sup>	1.17±0.2 <sup>A,a</sup>
	12	4.94±0.1 <sup>A,a</sup>	0.49±0.1 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>AB,b</sup>	2.34±0.0 <sup>A,b</sup>	28.08±0.1 <sup>b,A</sup>	62.17±0.1 <sup>A,a</sup>	1.95±0.1 <sup>A,b</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	0	5.32±0.1 <sup>A,b</sup>	0.29±0.0 <sup>A,a</sup>	0.03±0.0 <sup>C,a</sup>	0.02±0.0 <sup>A,a</sup>	2.72±0.0 <sup>B,a</sup>	28.81±0.2 <sup>AB,a</sup>	62.04±0.2 <sup>A,a</sup>	0.78±0.2 <sup>AB,a</sup>
	4	5.08±0.1 <sup>A,a</sup>	0.41±0.1 <sup>A,ab</sup>	0.02±0.0 <sup>AB,b</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.58±0.1 <sup>A,b</sup>	28.44±0.1 <sup>A,ab</sup>	62.28±0.1 <sup>A,a</sup>	1.18±0.1 <sup>A,b</sup>
	8	5.07±0.1 <sup>A,a</sup>	0.44±0.1 <sup>AB,b</sup>	0.02±0.0 <sup>A,b</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.53±0.1 <sup>A,b</sup>	28.54±0.3 <sup>A,a</sup>	62.22±0.2 <sup>AB,a</sup>	1.17±0.3 <sup>A,b</sup>
	12	4.99±0.1 <sup>A,a</sup>	0.46±0.1 <sup>A,b</sup>	0.01±0.0 <sup>A,b</sup>	0.01±0.0 <sup>AB,a</sup>	2.40±0.1 <sup>A,c</sup>	28.14±0.3 <sup>AB,b</sup>	62.31±0.2 <sup>A,a</sup>	1.67±0.2 <sup>A,c</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	0	5.28±0.0 <sup>A,a</sup>	0.33±0.0 <sup>A,a</sup>	0.02±0.0 <sup>B,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.62±0.1 <sup>AB,ab</sup>	28.94±0.2 <sup>B,c</sup>	62.19±0.1 <sup>A,a</sup>	0.60±0.2 <sup>A,a</sup>
	4	5.21±0.4 <sup>A,a</sup>	0.36±0.2 <sup>A,a</sup>	0.02±0.0 <sup>AB,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.69±0.3 <sup>A,b</sup>	28.65±0.4 <sup>A,bc</sup>	62.17±0.4 <sup>A,a</sup>	0.88±0.5 <sup>A,ab</sup>
	8	5.10±0.1 <sup>A,a</sup>	0.46±0.1 <sup>AB,a</sup>	0.02±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.55±0.1 <sup>A,ab</sup>	28.28±0.4 <sup>A,ab</sup>	62.29±0.4 <sup>AB,a</sup>	1.29±0.3 <sup>A,b</sup>
	12	5.01±0.1 <sup>A,a</sup>	0.48±0.1 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>B,a</sup>	2.41±0.1 <sup>A,a</sup>	27.88±0.3 <sup>AB,a</sup>	62.38±0.2 <sup>A,a</sup>	1.81±0.3 <sup>A,c</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	0	5.27±0.1 <sup>A,a</sup>	0.32±0.1 <sup>A,a</sup>	0.02±0.0 <sup>BC,c</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.69±0.1 <sup>AB,c</sup>	28.87±0.1 <sup>B,c</sup>	62.07±0.1 <sup>A,a</sup>	0.75±0.2 <sup>AB,a</sup>
	4	5.09±0.0 <sup>A,b</sup>	0.49±0.0 <sup>A,b</sup>	0.02±0.0 <sup>B,bc</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.60±0.0 <sup>A,bc</sup>	28.41±0.1 <sup>A,b</sup>	62.12±0.1 <sup>A,a</sup>	1.27±0.1 <sup>A,b</sup>
	8	5.12±0.1 <sup>A,b</sup>	0.52±0.1 <sup>A,b</sup>	0.02±0.0 <sup>A,ab</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	2.51±0.1 <sup>A,b</sup>	27.46±0.4 <sup>B,a</sup>	62.65±0.3 <sup>B,b</sup>	1.71±0.2 <sup>B,c</sup>
	12	4.93±0.0 <sup>A,a</sup>	0.54±0.0 <sup>A,b</sup>	0.01±0.0 <sup>A,a</sup>	0.01±0.0 <sup>AB,a</sup>	2.32±0.0 <sup>A,a</sup>	27.73±0.2 <sup>A,a</sup>	62.40±0.3 <sup>A,ab</sup>	2.06±0.1 <sup>A,d</sup>

Uppercase letters show significant differences in each treatment and lowercase letters show significant differences in storage time, at  $p < 0.05$



Table 4. The fatty acid composition of olive oils enriched with essential oils during accelerated storage (%)

	Day	C16:0	C16:1	C17:0	C17:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Control	0	11.63±0.1 <sup>A,a</sup>	1.95±0.0 <sup>B,a</sup>	0.04±0.0 <sup>A,ab</sup>	0.07±0.0 <sup>A,ab</sup>	1.78±0.0 <sup>A,a</sup>	67.31±0.7 <sup>A,a</sup>	16.16±0.5 <sup>AB,b</sup>	1.07±0.3 <sup>A,a</sup>
	4	11.76±0.3 <sup>A,a</sup>	1.68±0.0 <sup>A,b</sup>	0.04±0.0 <sup>A,ab</sup>	0.08±0.0 <sup>A,b</sup>	1.83±0.0 <sup>A,a</sup>	69.04±0.3 <sup>A,b</sup>	14.67±0.2 <sup>A,a</sup>	0.89±0.1 <sup>A,a</sup>
	8	11.83±0.5 <sup>A,a</sup>	1.70±0.1 <sup>A,b</sup>	0.04±0.0 <sup>B,b</sup>	0.08±0.0 <sup>A,ab</sup>	1.83±0.1 <sup>C,a</sup>	69.37±0.7 <sup>C,b</sup>	14.28±0.6 <sup>A,a</sup>	0.87±0.1 <sup>A,a</sup>
	12	11.79±0.2 <sup>A,a</sup>	1.90±0.1 <sup>A,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.06±0.0 <sup>A,a</sup>	1.71±0.1 <sup>A,b</sup>	67.91±0.5 <sup>A,a</sup>	15.55±0.6 <sup>A,b</sup>	1.05±0.1 <sup>A,a</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (500 ppm)	0	11.70±0.1 <sup>A,a</sup>	1.89±0.1 <sup>AB,b</sup>	0.04±0.0 <sup>A,ab</sup>	0.07±0.0 <sup>A,ab</sup>	1.78±0.0 <sup>A,c</sup>	67.67±0.4 <sup>AB,a</sup>	15.85±0.4 <sup>AB,a</sup>	1.00±0.0 <sup>A,b</sup>
	4	11.50±0.6 <sup>A,a</sup>	1.68±0.1 <sup>A,a</sup>	0.04±0.0 <sup>A,b</sup>	0.09±0.0 <sup>A,b</sup>	1.77±0.1 <sup>A,bc</sup>	68.95±0.8 <sup>A,b</sup>	15.07±0.6 <sup>A,a</sup>	0.90±0.1 <sup>A,a</sup>
	8	11.76±0.1 <sup>A,a</sup>	1.90±0.0 <sup>C,b</sup>	0.04±0.0 <sup>B,ab</sup>	0.08±0.0 <sup>A,ab</sup>	1.72±0.0 <sup>AB,ab</sup>	67.91±0.5 <sup>AB,a</sup>	15.56±0.5 <sup>BC,a</sup>	1.02±0.0 <sup>BC,b</sup>
	12	11.76±0.1 <sup>A,a</sup>	1.90±0.0 <sup>A,b</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.07±0.0 <sup>A,a</sup>	1.71±0.0 <sup>A,a</sup>	68.30±0.4 <sup>AB,ab</sup>	15.20±0.4 <sup>A,a</sup>	1.04±0.1 <sup>A,b</sup>
<i>L. nobilis</i> L. (1000 ppm)	0	11.66±0.3 <sup>A,a</sup>	1.86±0.1 <sup>AB,a</sup>	0.04±0.0 <sup>A,a</sup>	0.07±0.0 <sup>A,a</sup>	1.77±0.1 <sup>A,ab</sup>	67.47±0.9 <sup>AB,a</sup>	16.42±0.1 <sup>B,c</sup>	1.20±0.3 <sup>A,b</sup>
	4	12.10±0.3 <sup>A,a</sup>	1.71±0.1 <sup>A,a</sup>	0.04±0.0 <sup>A,a</sup>	0.08±0.0 <sup>A,a</sup>	1.82±0.1 <sup>A,b</sup>	68.86±0.3 <sup>A,b</sup>	14.53±0.3 <sup>A,a</sup>	0.86±0.0 <sup>A,a</sup>
	8	11.90±0.2 <sup>A,a</sup>	1.81±0.1 <sup>BC,a</sup>	0.04±0.0 <sup>B,a</sup>	0.07±0.0 <sup>A,a</sup>	1.73±0.0 <sup>B,ab</sup>	67.96±0.4 <sup>B,ab</sup>	15.47±0.5 <sup>BC,b</sup>	1.03±0.1 <sup>BC,ab</sup>
	12	11.96±0.3 <sup>A,a</sup>	1.86±0.1 <sup>A,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.07±0.0 <sup>A,a</sup>	1.71±0.1 <sup>A,a</sup>	68.56±0.8 <sup>AB,b</sup>	14.85±0.9 <sup>A,ab</sup>	0.96±0.1 <sup>A,ab</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (500 ppm)	0	11.61±0.1 <sup>A,a</sup>	1.83±0.0 <sup>AB,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,ab</sup>	0.06±0.0 <sup>A,a</sup>	1.78±0.0 <sup>A,b</sup>	67.42±0.5 <sup>AB,a</sup>	16.03±0.4 <sup>AB,b</sup>	1.24±0.2 <sup>A,b</sup>
	4	11.94±0.8 <sup>A,a</sup>	1.68±0.1 <sup>A,b</sup>	0.04±0.0 <sup>A,c</sup>	0.08±0.0 <sup>A,b</sup>	1.82±0.1 <sup>A,b</sup>	68.99±0.5 <sup>A,b</sup>	14.57±0.8 <sup>A,a</sup>	0.88±0.1 <sup>A,a</sup>
	8	11.66±0.1 <sup>A,a</sup>	1.88±0.1 <sup>BC,a</sup>	0.04±0.0 <sup>AB,bc</sup>	0.08±0.0 <sup>A,ab</sup>	1.68±0.0 <sup>A,a</sup>	67.61±0.3 <sup>A,a</sup>	15.97±0.2 <sup>C,b</sup>	1.09±0.1 <sup>C,ab</sup>
	12	11.62±0.4 <sup>A,a</sup>	1.89±0.0 <sup>A,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.06±0.0 <sup>A,a</sup>	1.69±0.0 <sup>A,a</sup>	68.82±0.4 <sup>B,b</sup>	14.86±0.3 <sup>A,a</sup>	1.03±0.0 <sup>A,ab</sup>
<i>L. stoechas</i> L. (1000 ppm)	0	11.43±0.6 <sup>A,a</sup>	1.78±0.1 <sup>A,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.07±0.0 <sup>A,a</sup>	1.77±0.1 <sup>A,bc</sup>	68.37±0.5 <sup>B,a</sup>	15.57±0.9 <sup>A,a</sup>	0.80±0.5 <sup>A,a</sup>
	4	12.03±0.2 <sup>A,b</sup>	1.74±0.2 <sup>A,a</sup>	0.04±0.0 <sup>A,a</sup>	0.08±0.0 <sup>A,b</sup>	1.80±0.1 <sup>A,c</sup>	68.62±1.0 <sup>A,a</sup>	14.79±1.0 <sup>A,a</sup>	0.89±0.1 <sup>A,a</sup>
	8	11.93±0.1 <sup>A,ab</sup>	1.78±0.0 <sup>AB,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.08±0.0 <sup>A,ab</sup>	1.73±0.0 <sup>AB,ab</sup>	68.57±0.3 <sup>AB,a</sup>	14.99±0.4 <sup>B,a</sup>	0.90±0.1 <sup>AB,a</sup>
	12	11.88±0.1 <sup>A,ab</sup>	1.87±0.0 <sup>A,a</sup>	0.03±0.0 <sup>A,a</sup>	0.07±0.0 <sup>A,a</sup>	1.67±0.0 <sup>A,a</sup>	68.62±0.1 <sup>AB,a</sup>	14.82±0.1 <sup>A,a</sup>	1.05±0.0 <sup>A,a</sup>

Uppercase letters show significant differences in each treatment and lowercase letters show significant differences in storage time, at  $p < 0.05$

## Conclusions

Lipid oxidation is an important reaction since it has detrimental effects not only on food quality but also on human health. It is imperative to reduce lipid oxidation and enhance the oxidative stabilities of lipid products. The food industry has broadly used antioxidant strategies to preserve the food quality. Synthetic antioxidants are commonly used in the industry to prevent oxidation. However, concerns about their adverse effects on human health have pushed producers to search for alternative natural antioxidants. In this study, sunflower and olive oils were enriched with laurel and French lavender essential oils at 500 and 1000 ppm levels and stored at 60 °C for 12 days. The changes in quality parameters and fatty acid distribution of oils were monitored. The peroxide and  $K_{232}$  values were slightly and positively affected by the inclusion of essential oils. However, the same preventive effect was not observed for the hydrolysis reaction. It is recommended that future studies focus on possible other utilization ways of laurel and French lavender, independently of their concentration level. These essential oils can be experimented especially in long term lipid storage studies at room temperature.

## Acknowledgement

This research was supported by Aydın Adnan Menderes University Research Fund. Project Number: MF-20015.

## Conflict of interest:

The authors declare no conflict of interest.

## Author contributions:

Aslı Yorulmaz designed the study and wrote the article. Özge Yüzereroğlu conducted the experimental studies. Both authors contributed to the evaluation of the results.

## References

AOCS. 2003. Official Methods and Recommended Practices

- of the American Oil Chemists' Society, Champaign, IL.
- Angioni, A., Barra, A., Coroneo, V., Dessi, S., & Cabras, P. (2006). Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(12), 4364-4370. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0603329>
- Arcoleo, G., Indovina, M. C., Varvara, G., Lanza, C. M., & Mazzaglia, A. (2009). Improving olive oil shelf life with lemon essential oil. *Chem Eng Trans*, 17, 849-854. DOI: <https://doi.org/10.3303/CET0917142>
- Arora, M., Siddiqui, A. A., Pilwali, S., & Sood, P. (2015). A phyto-pharmacological overview on *Salvadora oleoides* Decne. *Indian Journal of Natural Products and Resources (IJNPR)[Formerly Natural Product Radiance (NPR)]*, 5(3), 209-214. DOI: <https://doi.org/10.56042/ijnpr.v5i3.1778>.
- Asensio, C. M., Nepote, V., & Grosso, N. R. (2011). Chemical stability of extra-virgin olive oil added with oregano essential oil. *Journal of Food Science*, 76(7), S445-S450. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02332.x>.
- Ataei Salehi, E., & Soleimanpour, N. (2019). Evaluation of antioxidant effect of oregano (*Origanum Vulgare*) essence on oxidative stability of frying oil. *Food Research Journal*, 29(3), 1-11.
- Aysel, M. B., Bayrak, A., Kiralan, M., & Ozbucak, T. (2013). Individual and combined use of rosemary and origanum in soybean oil as natural antioxidants. *International Journal of Food Properties*, 16(5), 995-1001. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.573118>.
- Carrasco, A., Ortiz-Ruiz, V., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., & Tudela, J. (2015). *Lavandula stoechas* essential oil from Spain: Aromatic profile determined by gas chromatography–mass spectrometry, antioxidant and lipoxygenase inhibitory bioactivities. *Industrial Crops and Products*, 73, 16-27. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.03.088>
- Carvalho Jr, R. N., Moura, L. S., Rosa, P. T., & Meireles, M. A. A. (2005). Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. *The Journal of Supercritical Fluids*, 35(3), 197-204. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2005.01.009>.
- Causevic, A., Omeragic, E., Maestro, D., & Causevic, M. (2023). Effect of essential oils on the oxidative stability of sunflower oil during storage. *Helia*, 46(78), 101-122. DOI: <https://doi.org/10.1515/helia-2022-0017>.
- Chahal, K. K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N., & Kaur, A. (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(4), 1153-1161.

- Choe, E., & Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of food science*, 72(5), R77-R86. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00352.x>
- Çalik, G. (2017). Farklı depolama koşullarında soğuk pres yağların oksidatif stabiliteilerinin değerlendirilmesi (Master's Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Dob, T., Dahmane, D., Agli, M., & Chelghoum, C. (2006). Essential oil composition of *Lavandula stoechas* from Algeria. *Pharmaceutical biology*, 44(1), 60-64. DOI: <https://doi.org/10.1080/13880200500496421>.
- Frankel, E. N. (2007). *Antioxidants in food and biology*. Dundee: The Oily Press LTD.
- Hassiotis, C. N. (2010). Chemical compounds and essential oil release through decomposition process from *Lavandula stoechas* in Mediterranean region. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38(4), 493-501. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2010.05.002>
- IUPAC. (1987). *International Union of Pure and Applied Chemistry. Standard Methods for Analysis of Oils, Fats and Derivates*, 7th Edn, IUPAC Method 2.301, Blackwell Scientific Publications, Palo Alto, California., USA.
- Kırmızıbekmez, H., Demirci, B., Yeşilada, E., Başer, K. H. C., & Demirci, F. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey. *Natural Product Communications*, 4(7), 1934578X0900400727. doi: DOI: <https://doi.org/10.1177/1934578X0900400727>.
- Mahanta, B. P., Bora, P. K., Kemprai, P., Borah, G., Lal, M., & Haldar, S. (2021). Thermolabile essential oils, aromas and flavours: Degradation pathways, effect of thermal processing and alteration of sensory quality. *Food Research International*, 145, 110404. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110404>.
- Marmesat, S., Morales, A., Velasco, J., & Dobarganes, M. C. (2010). Action and fate of natural and synthetic antioxidants during frying. DOI: <https://doi.org/10.3989/gya.021910>.
- Maszevska, M., Florowska, A., Dłużewska, E., Wroniak, M., Marciniak-Lukasiak, K., & Żbikowska, A. (2018). Oxidative stability of selected edible oils. *Molecules*, 23(7), 1746. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23071746>.
- Meng, Y., Yang, H., Wang, D., Ma, Y., Wang, X., & Blasi, F. (2021). Improvement for oxidative stability and sensory properties of sunflower oil flavored by *Huai Chrysanthemum* × *morifolium* Ramat. essential oil during accelerated storage. *Processes*, 9(7), 1199. DOI: <https://doi.org/10.3390/pr9071199>.
- Mulagić, A., Begić, M., Čorbo, S., Ašimović, Z., Gavrić, T., & Vesna, V. (2020, June). The influence of essential oils on the quality and stability of olive oil. In *Central European Congress on Food* (pp. 33-44). Cham: Springer International Publishing.
- Shahidi, F. (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. *Food/nahrung*, 44(3), 158-163. DOI: [https://doi.org/10.1002/1521-3803\(20000501\)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/1521-3803(20000501)44:3<158::AID-FOOD158>3.0.CO;2-L)
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2010). Lipid oxidation and improving the oxidative stability. *Chemical society reviews*, 39(11), 4067-4079.
- Tan, C. H., Ariffin, A. A., Ghazali, H. M., Tan, C. P., Kuntom, A., & Choo, A. C. Y. (2017). Changes in oxidation indices and minor components of low free fatty acid and freshly extracted crude palm oils under two different storage conditions. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 1757-1764. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2569-9>
- Taoudiat, A., Djenane, D., Ferhat, Z., & Spigno, G. (2018). The effect of *Laurus nobilis* L. essential oil and different packaging systems on the photo-oxidative stability of Chemlal extra-virgin olive oil. *Journal of food science and technology*, 55(10), 4212-4222. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3357-x>.
- Tohma, S., & Turan, S. (2015). Rosemary plant (*Rosmarinus officinalis* L.), solvent extract and essential oil can be used to extend the usage life of hazelnut oil during deep frying. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(12), 1978-1990. DOI: <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400382>.
- Turhan, S., & Tural, S. (2017). Kekik (*Thymus Vulgaris* L.), Biberiye (*Rosmarinus Officinalis* L.) Ve Defne (*Lauris Nobilis* L.) Uçucu Yağlarının ve Karışımlarının Antimikrobiyal ve Antioksidan Özellikleri. *Gıda*, 42(5), 588-596. DOI: <https://doi.org/10.15237/gida.GD17030>.
- Ulaş, M. (2015). Ayçiçek Yağının Oksidatif Stabilitesi Üzerine Çörekotu (*Nigella sativa*) Yağının Etkileri. Abant İzzet Baysal Üniversitesi (Master's Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Yang, Y., Song, X., Sui, X., Qi, B., Wang, Z., Li, Y., & Jiang, L. (2016). Rosemary extract can be used as a synthetic antioxidant to improve vegetable oil oxidative stability. *Industrial Crops and Products*, 80, 141-147. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.044>.
- Wang, D., Fan, W., Guan, Y., Huang, H., Yi, T., & Ji, J. (2018). Oxidative stability of sunflower oil flavored by essential oil from *Coriandrum sativum* L. during accelerated storage. *LWT*, 98, 268-275. doi: 10.1016/j.lwt.2018.08.055 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.055>.
- Wang, D., Meng, Y., Zhao, X., Fan, W., Yi, T., & Wang, X. (2019). Sunflower oil flavored by essential oil from *Punica granatum* cv. Heyinshiliu peels improved its oxidative stability and sensory properties. *LWT*, 111, 55-61. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.005>.
- Woolf A. (1999). Essential oil poisoning. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*. 37, 721-727. DOI: <https://doi.org/10.1081/CLT-100102450>.



# Quality and antioxidant properties of mixed fruit juice as affected by cold plasma treatment

## Soğuk plazma uygulamasının karışık meyve suyunun kalite ve antioksidan özelliklerine etkileri

Ecre ŞAHİNOĞLU<sup>1</sup> , Celale KIRKIN GÖZÜKIRMIZI<sup>2\*</sup> 

<sup>1,2</sup> İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya-Metalurji Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 34469 Maslak, İstanbul.

<sup>1</sup><https://orcid.org/0009-0004-1424-1929>; <sup>2</sup><https://orcid.org/0000-0003-0736-4213>

### To cite this article:

Şahinoğlu, E. & Kırkin Gözükırmızı, C. (2024). Quality and antioxidant properties of mixed fruit juice as affected by cold plasma treatment. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 28(4): 711-719

DOI: 10.29050/harranziraat.1405216

**\*Address for Correspondence:**  
Celale KIRKIN GÖZÜKIRMIZI  
e-mail: kirkin@itu.edu.tr

### Received Date:

15.12.2023

### Accepted Date:

28.11.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

This study aimed to assess the effects of cold plasma treatment on some quality and antioxidant properties of mixed fruit juices. Fresh mixed juice of apple, black carrot, and strawberry was subjected to dielectric barrier discharge cold plasma (DBDCP) treatment (40 kV) for 10 (CP10), or 20 min (CP20) or heat treated (HT) at 95 °C for 2 min. The samples which were not DBDCP- or heat-treated were used as the control. The changes in the titratable acidity, pH, total soluble solids, color, natural microbial load, total phenolic content (TPC), and antioxidant activity upon the treatments were evaluated. The DBDCP treatment did not cause any significant differences in the titratable acidity, pH, total soluble solids content and TPC, while the heat treatment led to a decrease in the titratable acidity and TPC. Also, the total color difference was higher upon the heat treatment than the DBDCP treatment. The HT samples demonstrated lower L\* value and higher a\*, b\*, and C\* values than the other samples. Furthermore, there was no change in the cupric ion-reducing antioxidant capacity (CUPRAC) of DBDCP-treated samples, but the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity was lower in CP20 than that was in the control and CP10. On the other hand, HT samples demonstrated lower antioxidant activity than the control and DBDCP-treated samples. On the other hand, the yeast-mold count was not changed by the DBDCP treatment but reduced to below the detection limit upon the heat treatment. Thus, it can be said that DBDCP treatment of mixed fruit juice can be used to enhance the antioxidant activity, but more studies are required to guarantee microbial safety.

**Key Words:** Cold plasma, fruit juice, antioxidant activity, quality

### Öz

Bu çalışmada, soğuk plazma uygulamasının karışık meyve suyunun bazı kalite antioksidan özelliklerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Taze karışık meyve suyu elma, siyah havuç ve çilek suyu kullanılarak hazırlanmış ve 10 (CP10) veya 20 dk (CP20) boyunca dielektrik bariyer boşaltım soğuk plazma (DBDCP) (40 kV) veya 95 °C'de 2 dk ısı işlemi (HT) uygulanmıştır. DBDCP veya ısı işlemine tabi tutulmayan örnekler kontrol olarak kullanılmıştır. Uygulanan işlemlerin ardından örneklerin titre edilebilir asitlik, pH, toplam çözünür katı madde, renk, mikrobiyal yük, toplam fenolik içerik (TPC) ve antioksidan aktivitesinde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. DBDCP işlemi titrasyon asitliği, pH, toplam çözünebilir katı madde içeriği ve TPC'de önemli bir farka neden olmazken, ısı işlemi sonucunda titrasyon asitliği ve TPC'de azalma görülmüştür. Ayrıca, toplam renk değişimi ısı işlemi uygulanmış örneklerde daha yüksek bulunmuştur. HT örneklerinin diğer örneklerle göre daha düşük L\* ve daha yüksek a\*, b\* ve C\* değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Ek olarak, DBDCP uygulanan örneklerin bakır iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesinde (CUPRAC) bir değişiklik olmazken, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürücü aktivitesi CP20'de kontrol ve CP10'a göre

daha düşük bulunmuştur. Dahası, HT örneklerinin kontrol ve DBDCP uygulanmış örneklerden daha düşük antioksidan aktivitesine sahip olduğu görülmüştür. Öte yandan, DBDCP maya-küf sayımında bir değişime neden olmazken ısı işlem uygulanan örneklerde tespit limitinin altına düştüğü görülmüştür. Bu nedenle DBDCP uygulamasının karışık meyve sularında antioksidan aktiviteyi artırmada kullanılabileceği söylenebilir ancak mikrobiyal güvenliğin garanti altına alınması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Soğuk plazma, meyve suyu, antioksidan aktivite, kalite

## Introduction

Fruit juices are frequently consumed food products with high consumer demand. They are rich in micro- and macronutrients and contain high concentrations of bioactive components. In addition, the consumer demand for minimally processed foods with high nutritional content and good sensory properties has been increasing (Ozen & Singh, 2020).

Although fruit juices contain high levels of bioactive compounds, they need to be decontaminated to prevent microbial spoilage and pathogenic growth. However, thermal treatment can cause losses in the bioactive composition, sensory properties, and some quality parameters. Nonthermal food processing technologies can decrease heat-induced quality loss while providing microbial and enzymatic inactivation. Thus, investigating the utilization of nonthermal food processing in fruit juice products is important (Noguera, Lima, Filho, Fonteles, & Rodrigues, 2021).

Cold plasma technology can be regarded as one of the promising methods as an alternative to thermal processing. Cold plasma is generated by the ionization of the gaseous phase (Niemira, 2012). The utilization of the cold plasma process of various fruit juice products in different conditions has been studied by several researchers. For instance, plasma jet cold plasma treatment of aronia juice limited the decrease in the hydroxycinnamic acid content, but it also reduced the anthocyanin content (Bursać Kovačević et al., 2016). In addition, it was observed in another study that dielectric barrier discharge cold plasma (DBDCP) inactivated *Escherichia coli* O157:H7, and it did not cause any significant changes in quality properties (Liao et al., 2018). The cold plasma processing of food products can exhibit varying

effects on the contents of total phenolics, anthocyanins, and vitamins and the quality parameters, such as pH, color, sensory properties, and titratable acidity depending on several factors, such as the cold plasma system, gas, voltage, frequency, treatment time, sample amount, and matrix of the fruit juice (Ozen & Singh, 2020). Thus, the number of research studies that investigate the effects of different cold plasma systems, set-ups, and treatment conditions, such as the power, voltage, frequency, and treatment time, on different fruit juices should increase for the optimization and industrial adaptation of the technology (Ozen & Singh, 2020).

In addition, although there are several studies evaluating the effect cold plasma on the quality of the juices from different fruits, there have been no studies with black carrot juice or mixed fruit juices to the best of our knowledge. Besides, it has been reported that mixed juices are advantageous for the aroma, flavor, nutritional, and antioxidant properties (Bhardwaj & Pandey, 2011; Schiassi et al., 2018).

The objective of this study was to assess the effects of cold plasma treatment on the quality and antioxidant properties of mixed fruit juice of apple, black carrot, and strawberry.

## Material and Method

### *Fruit juice preparation*

The apples (Starking), black carrots, and strawberries were obtained from a local market between August 2022 and December 2022 and washed under water in the laboratory. The black carrot samples were peeled and diced before use. Then all samples were separately juiced in a juicer (Sinbo, Türkiye) and filtered using a filter paper (Whatman 1). Then equal amounts (approximately 50 mL) of the apple, black carrot, and strawberry

juices were mixed in a beaker. The same procedure was repeated three times. Then, some of the samples (7 mL) were separated for heat treatment at 95 °C for 2 min (HT) using three replications, while the remaining was treated with cold plasma. All samples were prepared freshly before the analysis (titratable acidity, pH, total soluble solids, color, microbial analysis) and extraction.

#### *Cold plasma treatment*

A 7 mL of the mixed juice was poured into a glass petri plate and placed between two parallel electrodes (316 stainless steel, 0,4 cm thickness, 95 mm diameter). The top electrode was coupled to a glass barrier (2 mm thickness, 140 mm x 140 mm). The space between the glass barrier (top) and the surface of the fruit juice was 12 mm. The dielectric barrier cold plasma (DBDCP) treatment was performed using a pulsed direct current (DC) power source (Asentek, Türkiye) at 40 kV (56 Hz, 10 mA) for 0 min (control), 10 min (CP10), or 20 min (CP20). All treatments were repeated three times. The parameters used in the cold plasma treatment were selected according to the findings of the preliminary runs.

#### *Titratable acidity, pH, and total soluble solids*

The titratable acidity (TA) of the fruit juice samples was determined by the protocol described by AOAC International (2005) with some modifications. The fruit juice samples were titrated with 0.1 N NaOH. Then, the TA of mixed juice samples was calculated using *Equation 1*.

$$TA (\%) = \frac{V_b \times C_b \times f \times 100}{m} \quad (1)$$

where  $V_b$  is the volume of the NaOH solution consumed,  $C_b$  is the density of the NaOH solution,  $f$  is the acidity factor (0.06 for malic acid), and  $m$  is the juice volume.

The pH of the samples was measured using a pH meter (Testo 206, Germany) at approximately 13-14 °C.

The total soluble solids content of the mixed juice samples was determined by using a hand refractometer (Loyka ATC 0-32, Türkiye).

#### *Color*

The color values ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) of the mixed fruit juice samples were measured by using a color measurement device (CR-400, Konica Minolta, Japan). Then the chroma ( $C^*$ ), the hue angle ( $h^\circ$ ), and the total color difference ( $\Delta E$ ) were calculated using the following equations:

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (2)$$

$$h^\circ = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right) \quad (3)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (4)$$

#### *Microbial analysis*

One mL of the mixed fruit juice samples was diluted in 9 mL peptone water and further serial dilutions were prepared (Aneja, 2001) and spread onto the plate count agar (PCA) and dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar for the total viable and yeast-mold count. The inoculated PCA and DRBC agar in petri plates were incubated at 37 °C for 24-48 h and at 25 °C for 3-5 days, respectively.

#### *Total phenolic content*

Methanolic extracts of the juice samples were prepared as described before with some modifications (Devi Ramaiya et al., 2013). A 1mL of fresh fruit juice was added with 25 mL of methanol (75% in water) and homogenized at 25 °C for 30 min in an ultrasonic bath (Isolab, Germany). Then the samples were centrifuged at 4000 rpm for 20 min (Universal 320R, Hettich, Germany). After centrifuging, the aliquots were separated and stored at -18 °C.

The TPC of the samples was assessed by the Folin-Ciocalteu assay as described by Spanos and Wrolstad (1990). The TPC of the fruit juice samples was expressed as mg gallic acid equivalents (GAE) L<sup>-1</sup>.

#### *Antioxidant activity*

The same extracts prepared for the TPC were used for the antioxidant activity analysis. The

antioxidant properties of fruit juice were determined by the cupric ion reducing antioxidant capacity (CUPRAC) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity assays using the methods described previously (Apak et al., 2007; Kumaran et al., 2006). The antioxidant activity was expressed as mg 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid equivalents (TE)L<sup>-1</sup>.

#### Statistical analysis

The data were evaluated using analysis of variance (ANOVA) and Duncan's multiple range test using statistical software (IBM SPSS Statistics 27, USA). The correlations between different parameters were determined using Pearson's correlation coefficients.

## Results and Discussion

#### Titratable acidity, pH, and TSS

The heat-treated samples exhibited lower titratable acidity (TA) values than that of the others ( $P < 0.05$ ) as shown in Table 1. The TA of DBDCP-treated samples was not different from that of the

control ( $P > 0.05$ ).

An increase in the TA of apple juice by increasing DBDCP power between 30 and 50 W was reported by Liao et al. (2018). On the other hand, Pankaj et al. (2017) reported that the TA of grape juice after cold plasma (at 80 kV for 1-4 min) and thermal treatment were decreased, and those of the cold plasma- and heat-treated samples were not different. The decrease in the TA was explained by the production of the hydroxyl radicals by the cold plasma treatment (Pankaj et al., 2017), while the production of nitrogenous acids and the oxidation of the aldehydes in the juice by the plasma generated species could increase the acidity (Liao et al., 2018).

Table 1. Titratable acidity and pH of the mixed fruit juice as affected by the DBDCP treatment.

Sample	Titratable acidity (%)	pH
Control	0.34 ± 0.02 <sup>a</sup>	4.51 ± 0.01 <sup>a</sup>
CP10	0.31 ± 0.06 <sup>a</sup>	4.50 ± 0.03 <sup>a</sup>
CP20	0.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	4.44 ± 0.08 <sup>a</sup>
HT	0.18 ± 0.02 <sup>b</sup>	4.48 ± 0.01 <sup>a</sup>

Control: not DBDCP- or heat-treated, CP10: DBDCP-treated for 10 min, CP20: DBDCP-treated for 20 min, HT: heat-treated. Values labeled with different letters in a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

None of the treatments affected the pH of the samples ( $P > 0.05$ , Table 1). Similarly, the pH of the grape juice processed by the DBDCP at 80 kV for 1-4 min was not different from those of the control and heat-treated (Pankaj et al., 2017). Also, it was reported in another study that cold plasma treatment at 45 V for up to 5 min did not affect the pH of tomato juice (Ali et al., 2021). On the contrary, a decline in the pH of apple juice with increasing DBDCP power and treatment time was observed (Liao et al., 2018). Almeida et al. (2015) also declared that the pH of prebiotic juice decreased upon direct and indirect cold plasma

treatment.

The total soluble solids content of all samples was similar ( $P > 0.05$ ) and approximately 10.5 °Brix. Similarly, the total soluble solids content of apple juice (Liao et al., 2018), grape juice (Pankaj et al., 2017), and orange juice (Shi et al., 2011) did not change upon cold plasma processing. However, it was stated that the total soluble solids content of tomato juice was increased after processing with cold plasma (Ali et al., 2021).

#### Color

The L\*, a\*, b\*, C\*, and h° values of the DBDCP-

treated samples were not altered compared to that of the untreated ( $P > 0.05$ ), but they had lower  $a^*$ ,  $b^*$ , and  $C^*$  values than the heat-treated samples ( $P < 0.05$ ) as demonstrated in Table 2. Also, the  $L^*$  value of the control and the 10 min DBDCP-treated samples was above that of the heat-treated ( $P < 0.05$ ). In addition, the total color difference caused by the DBDCP treatment was lower than that caused by the heat treatment ( $P < 0.05$ ). However, the  $\Delta E$  value significantly increased by approximately 12 folds as the treatment time increased ( $P < 0.05$ ). The changes

in the color values of juices could be associated with the enzymatic browning and degradations in the pigments and bioactive components (Ozen & Singh, 2020; Waghmare, 2021). In addition, a decrease in the  $L^*$  value and an increase in the  $a^*$  value were reported to be linked with the browning in juice (Illera et al., 2019). Thus, it could be said that the color change in the mixed juice samples caused by DBDCP at 40 kV for up to 20 min were only minor, and the treatment did not cause a significant loss in this quality parameter.

Table 2. Color values of the mixed fruit juice as affected by the DBDCP treatment.

Sample	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$C^*$	$h^\circ$	$\Delta E$
Control	$26.65 \pm 0.90^a$	$3.80 \pm 0.82^b$	$0.99 \pm 0.65^b$	$4.47 \pm 0.12^b$	$17.09 \pm 7.03^a$	
CP10	$26.96 \pm 1.03^a$	$4.99 \pm 0.88^b$	$1.65 \pm 0.43^b$	$5.27 \pm 0.89^b$	$16.04 \pm 2.98^a$	$0.34 \pm 0.02^c$
CP20	$25.20 \pm 4.03^{ab}$	$4.61 \pm 1.02^b$	$1.29 \pm 0.51^b$	$4.79 \pm 1.12^b$	$15.28 \pm 2.49^a$	$4.21 \pm 1.31^b$
HT	$21.32 \pm 1.85^b$	$22.41 \pm 1.34^a$	$8.47 \pm 0.67^a$	$23.96 \pm 1.49^a$	$20.69 \pm 0.37^a$	$21.48 \pm 0.42^a$

Control: not DBDCP- or heat-treated, CP10: DBDCP-treated for 10 min, CP20: DBDCP-treated for 20 min, HT: heat-treated. Values labeled with different letters in a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

It was stated by Kovačević et al. (2016) that cold plasma application led to decreases in color values ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$ , and  $\Delta E$ ) of pomegranate juice in comparison to the untreated samples, but the difference did not depend on the treatment time. In addition, Paixão et al. (2019) declared that glow discharge cold plasma application caused a slight increase in the  $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$  values of siriguela juice. In another study, variations in the color values of blueberry juice with increasing  $O_2$  concentration and treatment time were observed, but the change in the color values was greater when heat treatment was used (Hou et al., 2019). In contrast to the findings of the current study, the cold plasma processing of grape juice at 80 kV for up to 4 min caused color changes compared to the

heat-treated and control samples (Pankaj et al., 2017). Also, Almeida et al. (2015) stated that the  $L^*$  and chroma values of orange juice increased after cold plasma treatment, while the  $h^\circ$  was reduced, and the values also differed depending on the treatment time.

#### Microbial analysis

The total viable count of all samples was below the detection limit ( $< 2 \log \text{cfu mL}^{-1}$ ). The yeast-mold count of the control and DBDCP-treated samples ranged between  $3.76 - 3.85 \log \text{cfu mL}^{-1}$  as given in Table 3 and were not different from each other ( $P > 0.05$ ), whereas that of the heat-treated samples were below  $2 \log \text{cfu mL}^{-1}$ .

Table 3. Yeast and mold count of the mixed fruit juice as affected by the DBDCP treatment.

Sample	Yeast-mold count ( $\log \text{cfu mL}^{-1}$ )
Control	$3.76 \pm 0.08^a$
CP10	$3.79 \pm 0.18^a$
CP20	$3.85 \pm 0.02^a$
HT	$< 2$

Control: not DBDCP- or heat-treated, CP10: DBDCP-treated for 10 min, CP20: DBDCP-treated for 20 min, HT: heat-treated. Values labeled with different letters in a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

Cold plasma can inactivate microorganisms mainly by cell leakage, intracellular damage, and

DNA damage (Han et al., 2016; Liao et al., 2018; Pankaj et al., 2017). However, the inactivation can



vary due to various factors, such as the cold plasma system, treatment time, gas, gas flow rate, frequency, voltage, and microbial population (Mir et al., 2020). It was also reported that the cold plasma-induced inactivation of spores and yeasts could be more difficult due to the polysaccharide layer in their cell wall (Mravlje et al., 2021). For instance, the yeast-mold count of fresh tomato juice did not change after gliding arc cold plasma processing at 3.8 kV for up to 600 s (Starek-Wójcicka et al., 2022). Also, Mehta et al. (2019) stated that the cold plasma processing at 60 kV for 10-15 min resulted in an approximately 1 log reduction in the yeast-mold count of a tomato-based beverage. It can be said that more studies investigating the effects of different cold plasma parameters to improve microbial inhibition in mixed fruit juice are required.

#### *Total phenolic content*

The changes in the TPC of the samples are shown in Table 4. There were no significant differences caused by the cold plasma treatment ( $P > 0.05$ ), while the TPC values of the heat-treated samples were below the others ( $P < 0.05$ ).

Similarly, the TPC of blueberry juice increased after cold plasma with increasing treatment time and  $O_2$  concentration compared to that of the heat-treatment samples (Hou et al., 2019). Moreover, it was reported that DBDCP treatment at 20 kV and frequencies between 50 – 900 Hz increased the phenolic content of apple juice (Farias et al., 2022). Also, the TPC of cloudy apple juice increased by cold plasma treatment as stated by Illera et al. (2019). In addition, the TPC of apple juice was increased by cold plasma processing with increasing treatment time and power (Liao et al., 2018). The phenolic components (gallic acid, chlorogenic acid, catechin, and quercetin) of kiwifruit juice was higher after cold plasma treatment than heat treatment (Kumar et al., 2024). However, cold plasma treatment at 80 kV for up to 4 min and heat treatment decreased the TPC of grape juice (Pankaj et al., 2017). The effect of cold plasma processing on the TPC of juices depends on several factors, including the plasma system, gas, gas flow rate, power, voltage, frequency, and treatment time (Almeida et al., 2015; Farias et al., 2020; Farias et al., 2022; Illera et al., 2019; Kumar et al., 2023; Liao et al., 2018).

Table 4. TPC of the mixed fruit juice as affected by the DBDCP treatment.

Sample	TPC (mg GAE L <sup>-1</sup> )
Control	823.44 ± 11.17 <sup>a</sup>
CP10	801.06 ± 13.03 <sup>a</sup>
CP20	783.95 ± 25.93 <sup>a</sup>
HT	703.22 ± 31.84 <sup>b</sup>

Control: not DBDCP- or heat-treated, CP10: DBDCP-treated for 10 min, CP20: DBDCP-treated for 20 min, HT: heat-treated. Values labeled with different letters in a column are significantly different ( $P < 0.05$ ).

The cold plasma-induced changes in the TPC of juices could be related to the changes in color, as cold plasma can cause changes in pigments and phenolic components (Ozen & Singh, 2020). As a matter of fact, the total phenolic content positively correlated with the titratable acidity and L\* value ( $P < 0.05$ ). Moreover, negative correlations between the TPC and the a\*, b\*, and C\* values were noted ( $P < 0.05$ ).

#### *Antioxidant activity*

The antioxidant activity of the mixed fruit juice as affected by the DBDCP and heat treatment is exhibited in Table 5. The CUPRAC and DPPH scavenging activity-based antioxidant activity was lower in heat-treated samples than in the control and DBDCP treated samples ( $P < 0.05$ ). In addition, the DPPH scavenging activity of the 20 min DBDCP-treated samples was lower than that of the untreated and 10 min DBDCP-treated samples ( $P < 0.05$ ). Also, the DPPH-based antioxidant activity positively correlated with the TPC ( $P < 0.05$ ).

Table 5. Antioxidant activity of the mixed fruit juice as affected by the DBDCP treatment.

Sample	CUPRAC (mg TE L <sup>-1</sup> )	DPPH (mg TE L <sup>-1</sup> )
Control	3346.67 ± 615.20 <sup>a</sup>	1872.66 ± 36.49 <sup>a</sup>
CP10	3370.84 ± 180.14 <sup>a</sup>	1848.08 ± 53.87 <sup>a</sup>
CP20	3573.85 ± 406.35 <sup>a</sup>	1656.39 ± 64.30 <sup>b</sup>
HT	2544.32 ± 517.00 <sup>b</sup>	1424.13 ± 22.65 <sup>c</sup>

Control: not DBDCP- or heat-treated, CP10: DBDCP-treated for 10 min, CP20: DBDCP-treated for 20 min, HT: heat-treated. Values labeled with different letters in a column are significantly different (P < 0.05).

The decrease in the DPPH scavenging activity after the 20 min treatment could be explained by the reaction of the antioxidant components with the plasma-generated species. It was reported that prolonged exposure to cold plasma treatment can decrease antioxidant activity because of the formation of plasma-induced substances (Ali et al., 2021; Fernandes & Rodrigues, 2021; Pankaj et al., 2018). It was observed by Farias et al. (2022) that the antioxidant activity of apple juice varied depending on the cold plasma system, frequency, treatment time, and gas flow rate. Almeida et al. (2015) also claimed that the DPPH scavenging activity of prebiotic orange juice was not affected by the cold plasma processing at 70 kV for up to 60 s. On the contrary, the antioxidant activity of grape juice decreased upon cold plasma treatment at 80 kV for 4 min in comparison to the untreated, but it was similar to that of the heat-treated samples (Pankaj et al., 2017).

The variation between the findings obtained by the CUPRAC and DPPH methods was also observed in previous studies (Sethi et al., 2020). Apak et al. (2007) claimed that CUPRAC method has advantages over other electron transfer based assays.

## Conclusion

The treatment of mixed fruit juice with DBDCP at 40 kV for 10 and 20 min did not cause a notable influence on the TA, pH, or total soluble solids content. The treatment also did not change the L\*, a\*, b\*, C\*, or h° values. Also, the ΔE value after the 20 min DBDCP process was below that after the heat treatment. The plasma-induced changes in the TPC, yeast-mold count, and antioxidant activity except for the 20 min treatment were not significant. Besides, the heat treatment negatively

affected the TPC and antioxidant activity but reduced the yeast-mold count to below 2 log cfu mL<sup>-1</sup>. In conclusion, the use of DBDCP in the treatment of mixed fruit juice can improve the antioxidant activity, but more studies are required to guarantee microbial safety.

## Acknowledgements

This study was supported by Scientific Research Projects Department of Istanbul Technical University (Project Number: MYL-2021-43319).

## Conflict of interest

The authors declare that there are no known conflicts interest.

## Author contributions

EŞ performed the analysis and investigation, data analysis and interpretation and drafting the article. CKG designed and supervised the study and participated in drafting the article. All authors approved the final version of the manuscript.

## References

- Ali, M., Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2021). Effects of dielectric barrier discharge cold plasma treatments on degradation of anilazine fungicide and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) juice. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(1), 69-75. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14600>
- Almeida, F. D. L., Cavalcante, R. S., Cullen, P. J., Frias, J. M., Bourke, P., Fernandes, F. A., & Rodrigues, S. (2015). Effects of atmospheric cold plasma and ozone on prebiotic orange juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 32, 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.001>
- Aneja, K. R. (2022). *Experiments in Microbiology, Plant Pathology, Tissue Culture and Microbial Biotechnology*. New Delhi: New Age International Limited.
- AOAC (2005). Official Methods of Analysis. Association of

- Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., ... & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496-1547. <https://doi.org/10.3390/12071496>
- Bhardwaj, R. L., & Pandey, S. (2011). Juice blends—a way of utilization of under-utilized fruits, vegetables, and spices: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51(6), 563-570. <https://doi.org/10.1080/10408391003710654>
- Bursaç Kovačević, D., Gajdoš Kljusurić, J., Putnik, P., Vukušić, T., Herceg, Z., & Dragović-Uzelac, V. (2016). Stability of polyphenols in chokeberry juice treated with gas phase plasma. *Food Chemistry*, 212, 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.192>
- Devi Ramaiya, S., Bujang, J.S., Zakaria, M.H., King, W.S. and Shaffiq Sahrir, M.A. (2013), Sugars, ascorbic acid, total phenolic content and total antioxidant activity in passion fruit (*Passiflora*) cultivars. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(5): 1198-1205. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5876>
- Farias, T. R., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. (2020). Effect of dielectric barrier discharge plasma excitation frequency on the enzymatic activity, antioxidant capacity and phenolic content of apple cubes and apple juice. *Food Research International*, 136, 109617. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109617>
- Farias, T. R., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. (2022). Comparative study of two cold plasma technologies on apple juice antioxidant capacity, phenolic contents, and enzymatic activity. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(10), e16871. <https://doi.org/10.1111/jfpp.16871>
- Fernandes, F. A. N., & Rodrigues, S. (2021). Cold plasma processing on fruits and fruit juices: a review on the effects of plasma on nutritional quality. *Processes*, 9(12), 2098. <https://doi.org/10.3390/pr9122098>
- Han, L., Patil, S., Boehm, D., Milosavljević, V., Cullen, P. J., & Bourke, P. (2016). Mechanisms of inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma differ for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 82(2), 450-458. <https://doi.org/10.1128/AEM.02660-15>
- Hou, Y., Wang, R., Gan, Z., Shao, T., Zhang, X., He, M., & Sun, A. (2019). Effect of cold plasma on blueberry juice quality. *Food Chemistry*, 290, 79-86. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.123>
- Illera, A. E., Chaple, S., Sanz, M. T., Ng, S., Lu, P., Jones, J., ... & Bourke, P. (2019). Effect of cold plasma on polyphenol oxidase inactivation in cloudy apple juice and on the quality parameters of the juice during storage. *Food Chemistry: X*, 3, 100049. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2019.100049>
- Kovačević, D. B., Putnik, P., Dragović-Uzelac, V., Pedisić, S., Jambrak, A. R., & Herceg, Z. (2016). Effects of cold atmospheric gas phase plasma on anthocyanins and color in pomegranate juice. *Food Chemistry*, 190, 317-323. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.099>
- Kumar, S., Pipliya, S., & Srivastav, P. P. (2023). Effect of cold plasma on different polyphenol compounds: A review. *Journal of Food Process Engineering*, 46(1), e14203. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14203>
- Kumar, S., Pipliya, S., Srivastav, P. P., Srivastava, B., Battula, S. R., & Sen, R. (2024). Cold plasma processing of kiwifruit juice: Effect on physicochemical, nutritional, microstructure, rheological properties and sensory attributes. *Journal of Food Science*, 89(10), 6127-6141. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.17284>
- Kumaran, A. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistry*, 97(1), 109-114. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.032>
- Liao, X., Li, J., Muhammad, A. I., Suo, Y., Chen, S., Ye, X., ... Ding, T. (2018). Application of a dielectric barrier discharge atmospheric cold plasma (DBD-ACP) for *Escherichia coli* inactivation in apple juice. *Journal of Food Science*, 83(2), 401–408. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14045>
- Mir, S. A., Siddiqui, M. W., Dar, B. N., Shah, M. A., Wani, M. H., Roohinejad, S., ... & Ali, A. (2020). Promising applications of cold plasma for microbial safety, chemical decontamination and quality enhancement in fruits. *Journal of Applied Microbiology*, 129(3), 474-485. <https://doi.org/10.1111/jam.14541>
- Mravlje, J., Regvar, M., & Vogel-Mikuš, K. (2021). Development of cold plasma technologies for surface decontamination of seed fungal pathogens: Present status and perspectives. *Journal of Fungi*, 7(8), 650. <https://doi.org/10.3390/jof7080650>
- Niemira, B. A. (2012). Cold plasma decontamination of foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3(1), 125–142. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101132>
- Noguera, N. H., Lima, D. C., Filho, E. G. A., Fonteles, T. V., & Rodrigues, S. (2021). Influence of different non-thermal processing on guava, orange, and tangerine juices and the food matrix effects. *Food and Bioprocess Technology*, 14, 1662-1672. <https://doi.org/10.1007/s11947-021-02663-6>
- Ozen, E., & Singh, R. K. (2020). Atmospheric cold plasma treatment of fruit juices: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.020>
- Paixão, L. M., Fonteles, T. V., Oliveira, V. S., Fernandes, F. A., & Rodrigues, S. (2019). Cold plasma effects on functional compounds of siriguela juice. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 110-121. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2197-z>

- Pankaj, S. K., Wan, Z., Colonna, W., & Keener, K. M. (2017). Effect of high voltage atmospheric cold plasma on white grape juice quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(12), 4016-4021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8268>
- Pankaj, S. K., Wan, Z., & Keener, K. M. (2018). Effects of cold plasma on food quality: A review. *Foods*, 7(1), 4. <https://doi.org/10.3390/foods7010004>
- Schiassi, M. C. E. V., Lago, A. M. T., Souza, V. R. D., Meles, J. D. S., Resende, J. V. D., & Queiroz, F. (2018). Mixed fruit juices from Cerrado: Optimization based on sensory properties, bioactive compounds and antioxidant capacity. *British Food Journal*, 120(10), 2334-2348. <https://doi.org/10.1108/BFJ-12-2017-0684>
- Sethi, S., Joshi, A., Arora, B., Bhowmik, A., Sharma, R. R., & Kumar, P. (2020). Significance of FRAP, DPPH, and CUPRAC assays for antioxidant activity determination in apple fruit extracts. *European Food Research and Technology*, 246, 591-598. <https://doi.org/10.1007/s00217-020-03432-z>
- Shi, X. M., Zhang, G. J., Wu, X. L., Li, Y. X., Ma, Y., & Shao, X. J. (2011). Effect of low-temperature plasma on microorganism inactivation and quality of freshly squeezed orange juice. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 39(7), 1591-1597. <https://doi.org/10.1109/TPS.2011.2142012>
- Spanos, G. A., & Wrolstad, R. E. (1990). Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1565-1571. <https://doi.org/10.1021/jf00097a030>
- Starek-Wójcicka, A., Sagan, A., Terebun, P., Kwiatkowski, M., Osmólska, E., Krajewska, M., ... & Pawlat, J. (2022). Quality of tomato juice as influenced by non-thermal air plasma treatment. *Applied Sciences*, 13(1), 578. <https://doi.org/10.3390/app13010578>
- Waghmare, R. (2021). Cold plasma technology for fruit based beverages: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.018>



# The Effect of Functional Component Grape Seed Powder on the Bioactive, Physicochemical, and Sensory Properties of Wild Cornelian Cherry (*Cornus mas L.*) and Blackthorn (*Prunus spinosa*) Fruit Leathers

## *Yabani Kızılcık (Cornus mas L.) ve Güvem Eriği (Prunus spinosa) Pestillerinin Biyoaktif, Fizikokimyasal ve Duyusal Özelliklerine Fonksiyonel Bileşen Üzüm Çekirdeği Tozunun Etkisi*

Elif ÇAKIR<sup>1\*</sup> Yüksel BAYRAM<sup>2</sup>

<sup>1</sup>İstanbul Aydın Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Florya, İstanbul

<sup>2</sup> Pamukkale Üniversitesi, Çal meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Denizli

<sup>1</sup><https://orcid.org/0000-0003-4343-3706>; <sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0001-7507-0220>

### To cite this article:

Çakır E. & Yüksel B. (2024). The Effect of Functional Component Grape Seed Powder on the Bioactive, Physicochemical, and Sensory Properties of Wild Cornelian Cherry (*Cornus mas L.*) and Blackthorn (*Prunus spinosa*) Fruit Leathers. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 28(4):720-727

DOI: 10.29050/harranziraat. 1484629

### \*Address for Correspondence:

Elif ÇAKIR

e-mail:

cakir.elif2014@gmail.com

### Received Date:

15.05.2024

### Accepted Date:

24.10.2024

© Copyright 2018 by Harran University Faculty of Agriculture. Available on-line at [www.dergipark.gov.tr/harranziraat](http://www.dergipark.gov.tr/harranziraat)



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

### ABSTRACT

In this study, the aim was to produce functional fruit leathers using wild cornelian cherry and blackthorn enriched with grape seed powder added at different rates (0%, 1% and 10%). Some physicochemical, bioactive, color and sensory properties of the produced fruit leathers were investigated. According to the results for physicochemical features of fruit leathers, % ash amount was 1.68-2.00%, % dry matter was 82.75-91.03, protein amount was 3.52-5.71%, pH was 3.04-3.43. While dry matter values were statistically significant between samples, the fruit leather samples richest in terms of ash amount were cornelian cherry and blackthorn fruit leathers containing 10% grape seed powder. The highest protein values were determined for blackthorn fruit leather containing 10% grape seed powder. The total phenolic content of Cornelian cherry fruit leather samples was 90.7-1164.0 mg GAE/100 g, while blackthorn fruit leather samples contained 52.4-1545.6 mg GAE/100 g. Fruit leather samples were determined to have significant increases in antioxidant capacity. The highest antioxidant capacity was determined in blackthorn and cornelian cherry fruit leathers containing 10% grape seed powder with values of 1969.0 mg TE/100 g and 1463.3 mg TE/100 g according to the DPPH method and 7414.1 mg TE/100 g and 4982.4 mg TE/100 g according to the CUPRAC method, respectively. The phenolic content and antioxidant capacity of wild fruit leather significantly increased with the addition of grape seed powder. While grape seed powder added to the formulation thickened the samples, the redness of the cornelian cherry fruit leathers increased, while the blueness of blackthorn fruit leathers increased. In terms of sensory features, the general approval scores between fruit leathers were affected at a statistically significant level. The 10% grape seed proportion reduced sensory approval, while the 1% rate was liked more. The highest approval was obtained for cornelian cherry fruit leather containing 1% grape seed powder.

**Key Words:** Cornelian cherry, blackthorn, Fruit leather, Grape seed, Bioactive

### ÖZ

Bu çalışmada, farklı oranlarda eklenen (%0, % 1 ve %10) üzüm çekirdeği tozu ile zenginleştirilmiş fonksiyonel yabani kızılcık ve güvem eriği pestilleri üretimi

amaçlanmıştır. Üretilen pestillerin bazı fiziko-kimyasal, biyoaktif, renk ve duyuşsal özellikleri araştırılmıştır. Pestillerin fizikokimyasal özellikleri sonuçlarına göre % kül miktarları %1.68-2.00; % kurumadde değerleri 82.75-91.03; protein miktarları %3.52-5.71; pH değerleri 3.04-3.43 arasında belirlenmiştir. % Kurumadde değerleri örnekler arasında istatistiki olarak önemli bulunurken, kül miktarları bakımından en zengin olan pestil örnekleri %10 üzüm çekirdeğı içeren kızılıık ve güvem eriğı pestillerinde olup, en yüksek protein değeri ise %10 üzüm çekirdeğı tozu içeren güvem eriğinde belirlenmiştir. Kızılıık pestili örneklerinin toplam fenolik içeriğı 90.7-1164.0 mg GAE/100 g aralığında, güvem eriğı içeren pestil örneklerinde 52.4-1545.6 mg GAE/100g aralığında belirlenmiştir. Pestil örneklerinde en yüksek antioksidan kapasitesileri %10 üzüm çekirdeğı tozu içeren güvem eriğı ve kızılıık pestillerinde sırasıyla DPPH yöntemine göre 1969.0 mg TE/100 g ve 1463.3 mg TE/100 g, CUPRAC yöntemine göre ise 7414.1 mg TE/100 g ve 4982.4 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir. Üzüm çekirdeğı tozu ilavesi yabancı meyveli pestillerin fenolik içeriğini ve antioksidan kapasitesini önemli derecede arttırdığı görülmüştür. Formülasyona ilave edilen üzüm çekirdeğı tozu pestillerin rengini koyulaştırırken, kızılıık pestillerinde kırmızılığı arttırmış güvem eriklerinde ise maviliğı arttırmıştır. Duyusal olarak pestiller arasında genel beğeni skorları istatistiki olarak önemli farklılıklar göstermiştir. %10 çekirdek oranı duyuşsal beğeni azaltmış olup %1 çekirdek içeren pestiller daha çok beğenilmiştir. En yüksek beğeni %1 çekirdek tozu içeren kızılıık pestillerinde skorlanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Kızılıık, Güvem eriğı, Pestil, Üzüm Çekirdeğı, Biyoaktif bileşikler

## Introduction

Wild fruits are considered very valuable nutrient sources due to containing several vitamins and minerals and having antioxidant features, though they are not consumed widely in many countries due to their sour and bitter taste (Sik et al., 2022). Wild fruits were determined to have higher nutritional quality compared to some other fruits (Akinnifesi et al., 2005). Easily degraded fruit can be converted into both economic and long-life products (da Silva Simão et al., 2020) by making fruit leather in a variety of types and shapes (Kara & Küçüköner, 2019; Tontul & Topuz, 2019). Fruit leather is a traditional product commonly produced in Türkiye, Armenia, Lebanon, Syria, Saudi Arabia and Iran. Fruit leathers, produced by drying under the sun, are prepared in the summer for winter consumption in several regions of Türkiye and have high vitamin, mineral and carbohydrate content (Suna et al., 2014). Fruit leather is generally made from grapes, but can also be made with several sweet or sour fruits (Kara & Küçüköner, 2019). Fruit leathers differ according to the variety and formulation used (Kaya & Kahyaoglu, 2005; Özbek, 2010; Yıldız et al.). Fruit from the Cornelian cherry (*Cornus mas L.*) (wild cornelian cherry) and blackthorn (*Prunus spinosa*) (blackthorn) appear to be perfect nutrient sources, significantly contributing to human nutrition and health. These fruits were determined to contain low fat proportions, and

high rates of carbohydrates, vitamins, minerals, flavonoids and phenolic acids, along with antioxidant content (Igwe & Charlton, 2016; Stacewicz-Sapuntzakis et al., 2001). A study determined that blackthorn contains high rates of calcium, magnesium, iron, zinc and manganese (Ozzengin et al., 2023). These fruits have a dominant sour taste. As a result, they are processed for products like jam, marmalade and fruit leather (Celik et al., 2006). Due to additives like walnuts and hazelnuts used in fruit leather production, apart from fruit, the nutritional quality increases (Kara & Küçüköner, 2019; Özbek, 2010; Şengül et al., 2020).

Grape seeds have been the topic of many scientific studies and are recognized as being a functional nutrient supplement rich in terms of bioactive compounds with high antioxidant value. Additionally, grape seeds are an important waste material and use in the food industry appears to be an important solution to economic and environmental problems (Beres et al., 2016; Bogoeva & Durakova, 2020; Schuster et al., 2017). Though fruit leathers are generally made from grapes, grape seeds are not used in fruit leather production. Grape seeds have a bitter taste, which makes consumption difficult. In this study, the aim was to produce fruit leather with advanced nutritional and functional features and high consumer approval by enriching fruit leather made from wild Cornelian cherry and blackthorn fruit with grape seed powder.

## Materials and Methods

The wild Cornelian cherry and blackthorn fruits used for fruit leather samples were collected from the slopes of Mount Istaranca in Kırklareli. Fruits were stored at +4 °C until processing.

### *Fruit Leather Production*

In the first stage of fruit leather preparation, fruits were washed and cleaned of dirt, leaves and other matter. For fruit leather production, 15% sugar, 5% starch and 10% flour, with 1% and 10% grape seed powder substituted for flour in samples apart from the control sample, were used. Firstly, wild Cornelian cherry and blackthorn fruits had the seeds removed and were boiled with water and sugar. The grape seed powder

was obtained by grinding in a grinder for 1 min. The seed powder, flour and starch were slowly added to the boiling mixture and continuously stirred. In the second stage, the boiled product was spread on trays to 1 mm thickness and then left to dry in room conditions for 3 days. Later the fruit leather samples were analysed. Six types of fruit leather samples were prepared; CC –wild Cornelian cherry control fruit leather, CGS1 – wild cornelian cherry fruit leather with 1% grape seed powder, CGS2 - wild cornelian cherry fruit leather with 10% grape seed powder, SC – blackthorn control fruit leather, SGS1– blackthorn fruit leather with 1% grape seed powder and SGS2 – blackthorn fruit leather with 10% grape seed powder (Figure 1).



Figure 1. Cornelian cherry and Blackthorn Fruit Leathers

### *Physicochemical Analyses*

#### *pH, % Moisture, % Ash and % Protein Analyses*

Analyses of some physicochemical features (moisture, acidity, protein, ash) of fruit leather samples were performed according to the method reported in AOAC (2000). The moisture content of the samples was determined by drying them in a vacuum oven at 70°C for 3.5 hours. Ash values in samples were determined in an ash oven (Protherm, Türkiye) at approximately 550 °C. Protein content for fruit leathers used the Kjeldahl nitrogen detection method. Samples were prepared with distilled water at 10% w/v and measured with a pH meter (Inolab, WTWC pH

720).

#### *Total Phenolic Matter, DPPH and CUPRAC Analyses*

Extraction was completed according to the method of Jeandet et. al. (1992). A sample was homogenized with 80% methanol (6%, w/v) and later placed in an ultrasonic water bath for 10 minutes. The sample was then mixed continuously at 250 rpm for 1 hour in an orbital mixer, then incubated and finally strained through filter paper. TPC was calculated by the Folin-Ciocalteu method using a calibration curve of gallic acid. (Singleton et al., 1999). Absorbance

was spectrophotometrically determined at 760 nm using a laboratory spectrophotometer (Shimadzu UV-1800, Kyoto 604–8511, Japan). Results are stated as gallic acid equivalent (GAE) on a dry matter basis (mg GAE/100 g). Antioxidant activity was determined using 2,2-diphenyl 1picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH). Absorbance was read at 517 nm. DPPH Results were expressed in Trolox equivalent (TE) units (mg TE/100 g) (Nizamlioglu et al., 2022). Antioxidant capacity detection with CUPRAC was determined according to the method described by Apak et al. (2004). The absorbance of the mixture was measured spectrophotometrically at 450 nm (Shimadzu UV-1800, Japan). Results are stated using Trolox standard (mg TE/ 100 mg).

#### Color Analyses

Fruit leather samples had L\* (white or sheen/darkness), a\* (red/green) and b\* (yellow/blue) values measured with a Hunter color measurement device (Chroma Meter CR-400, Konica-Minolta Sensing Inc., Osaka, Japan) (Maskan et al., 2002). The fruit leather samples were measured with the Hunter colorimeter for L\*(whiteness or brightness/darkness), a\* (redness/greenness) and b\* (yellowness/blueness) values (Maskan et al., 2002).

#### Sensory Analysis

A sensory assessment was completed with 36 students from İstanbul Aydın University (semi-

trained). A rating system from 1.0 to 7.0 was used for color/appearance, taste, hardness, stickiness and general acceptability (1= very bad, 7= perfect). Samples were coded with random 4-figure numbers and offered to panelists (Yavuz, 2019).

#### Statistical Analyses

Analyses were completed with 3 repeated samples. Mean  $\pm$  standard deviation was calculated from three repeats. One-way analysis of variance and the Duncan multiple comparison test to differentiate between mean values were applied using the JMP 9 program. Significant differences between groups are reported at  $\alpha=0.05$  level.

## Results and Discussions

#### Physicochemical Features of Fruit Leather Samples

The physicochemical features of fruit leather samples are given in Table 1. As the amount of grape seed powder in the formulation increased, significant increases in ash, protein and dry matter values were observed in the samples. When examined in statistical terms, grape seed powder added to the formulation and fruit variety caused statistically significant changes in the ash content of samples ( $P<0.05$ ). For wild cornelian cherry fruit leathers, ash was 1.68-1.98%, protein 4.29-5.71% and for blackthorn fruit leathers, ash was 1.74-2.00%, protein 3.52-4.82%.

Table 1. Physicochemical properties of fruit leathers

Fruit leather sample	Ash %	Dry matter %	Protein %	pH	TA %
CC	1.68 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	82.75 $\pm$ 0.77 <sup>c</sup>	4.29 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	3.04 $\pm$ 0.0 <sup>f</sup>	1,52 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>
CGS1	1.89 $\pm$ 0.00 <sup>b</sup>	86.94 $\pm$ 1,40 <sup>b</sup>	5.09 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	3.09 $\pm$ 0.1 <sup>e</sup>	1.52 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>
CGS2	1.98 $\pm$ 0.00 <sup>ab</sup>	90.50 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	5.71 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	3.20 $\pm$ 0.0 <sup>d</sup>	1.53 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>
SC	1.74 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	84.49 $\pm$ 1,34 <sup>c</sup>	3.52 $\pm$ 0.29 <sup>d</sup>	3.32 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>	1,58 $\pm$ 0,01 <sup>b</sup>
SGS1	1.90 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	88.04 $\pm$ 0,49 <sup>b</sup>	4.28 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	3.35 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	1.59 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
SGS2	2.00 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	91.03 $\pm$ 0,45 <sup>a</sup>	4.82 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	3.43 $\pm$ 0.0 <sup>a</sup>	1,61 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>

\*Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (n = 3) olarak verilmiştir. İstatistiki analizler her sütun için kendi içinde yapılmıştır ve aynı sütundaki farklı harfler p <0.05 düzeyinde anlamlı olarak farklıdır.\*Values are given as mean  $\pm$  standard deviation (n = 3). Statistical analysis for each column was made within itself and the different letters in the same column are significantly different at p <0.05 level.



Dry matter were 82.75-90.50 % for wild cornelian cherry fruit leathers and from 84.49-91.03% for blackthorn fruit leathers. Among dry matter values, fruit leathers containing 10% grape seed powder were determined to have the highest values compared to other samples. A study reported that refined flour mixed with grape seed powder had significantly higher total dietary fiber (TDF), lipids, ash, protein and carbohydrate content than refined flour (Difonzo et al., 2023). The pH values of fruit leathers were significantly different ( $P<0.05$ ). The highest pH was observed in the SGS2 sample containing 10% grape seed powder.

#### Total Phenolic Matter and Antioxidant Features

The total phenolic matter and antioxidant features of fruit leather samples are given in

Table 2. The addition of grape seed powder was determined to provide a statistically significant increase in the total phenolic matter content of samples ( $P<0.05$ ). The minimum total phenolic matter amounts in samples were 90.7 mg GAE/100 g to 52.4 mg GAE/100 g for samples only containing wild fruit. Maximum values were observed in CGS2 and SGS2 samples containing 10% grape seed powder with values of 1164.0 mg GAE/100 g and 1545.6 mg GAE/100 g, respectively. A study by Kamiloglu and Capanoglu (2014) reported the total phenolic matter amounts in grape, white mulberry, apricot and plum fruit leathers were 72 mg GEA/100 g, 28 GEA/100 g, 481 GEA/100 g and 1015 GEA/100 g, respectively.

Table 2. Total phenolic content (TFC), antioxidant activity (DPPH, CUPRAC) of the fruit leathers

Analyses	CC	CGS1	CGS2	SC	SGS1	SGS2
<b>TFC (mg GAE/100 g)</b>	90.7±1.42 <sup>d</sup>	1076.5±3.51 <sup>c</sup>	1164.0±5.25 <sup>b</sup>	52.4±0.73 <sup>e</sup>	1059.0±7.00 <sup>c</sup>	1545.6±3.30 <sup>a</sup>
<b>DPPH (mg TE/100 g)</b>	106.8±2.62 <sup>d</sup>	1029.5±8.20 <sup>c</sup>	1463.3±5.50 <sup>b</sup>	113.5±0.03 <sup>d</sup>	1204.6±1.44 <sup>c</sup>	1969.0±5.20 <sup>a</sup>
<b>CUPRAC (mg TE/100 g)</b>	2365.4±26.7 <sup>d</sup>	4812.6±19.4 <sup>ab</sup>	4982.4±17.0 <sup>b</sup>	1531.4±0.7 <sup>e</sup>	4479.2±0.3 <sup>c</sup>	7414.1±21.5 <sup>a</sup>

\*Values are given as mean ± standard deviation (n = 3). Statistical analysis for each row was made within itself and the different letters in the same row are significantly different at  $p < 0.05$  level. \*Değerler ortalama ± standart sapma (n = 3) olarak verilmiştir. İstatistiksel analiz her sütun için kendi içinde yapılmıştır ve aynı sütundaki farklı harfler  $p < 0.05$  düzeyinde anlamlı olarak farklıdır.

The DPPH values of fruit leather samples are given in Table 2. The CC, CGS1 and CGS2 samples had values ranging from 106.8-1463.3 mg TE/100g, while SC, SGS1 and SGS2 samples had values from 113.5-1969.0 mg TE/100 g. The DPPH values of fruit leather samples enriched with grape seed powder were statistically significantly different compared to fruit leathers in the control group ( $P<0.05$ ). The CUPRAC values for fruit leather samples were 2365.4-4982.4 mg TE/100 g for CC, CGS1 and CGS2 samples and 1531.4-7414.1 mg TE/100 g for SC, SGS1 and SGS2 samples. Just as with the DPPH values, an increase was observed in CUPRAC values with the addition of grape seed powder to the formulation

and the difference was determined to be significant in statistical terms ( $P<0.05$ ). A study reported that the DPPH values for grape, white mulberry, apricot and plum fruit leathers were 75 mg TE/100 g, 28 TE/100 g, 169 TE/100 g and 1147 TE/100 g, respectively (Kamiloglu & Capanoglu, 2014).The blackthorn fruit leathers were determined to have higher total phenolic matter and antioxidant values compared to wild cornelian cherry fruit leathers. The total phenolic matter and antioxidant features of fruit leather samples are given in Table 2. The addition of grape seed powder was determined to provide a statistically significant increase in the total phenolic matter content of samples ( $P<0.05$ ). The

minimum total phenolic matter amounts in samples were 90.7 mg GAE/100 g to 52.4 mg GAE/100 g for samples only containing wild fruit. Maximum values were determined in CGS2 and SGS2 samples containing 10% grape seed powder with values of 1164.0 mg GAE/100 g and 1545.6 mg GAE/100 g, respectively. A study by Kamiloglu and Capanoglu (2014) reported the total phenolic matter amounts in grape, white mulberry, apricot and plum fruit leathers were 72 mg GEA/100 g, 28 GEA/100 g, 481 GEA/100 g and 1015 GEA/100 g, respectively.

### Color Features of Fruit Leathers

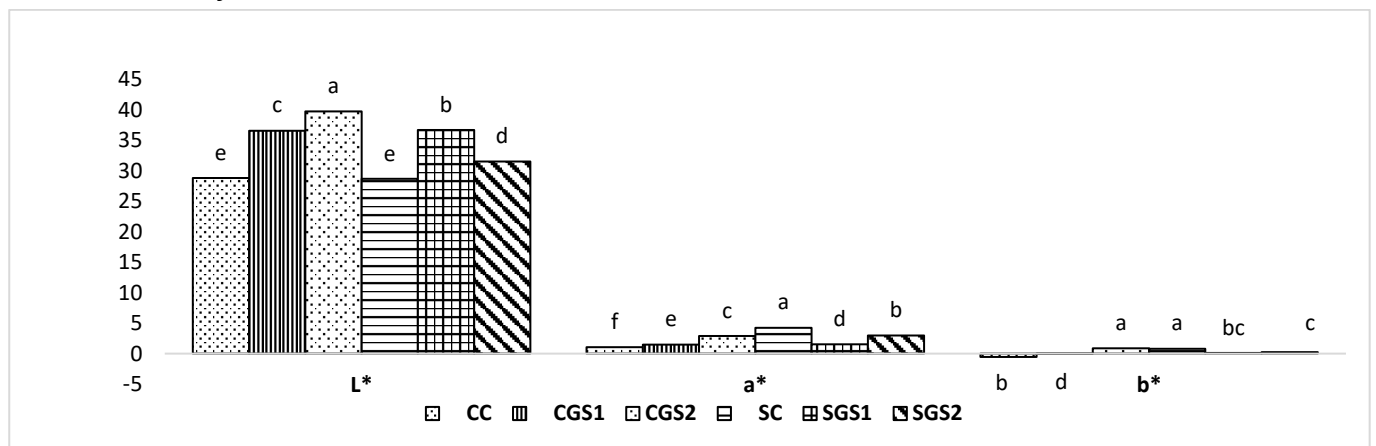


Figure 2. Color values (L\*, a\* and b\*) of the fruit leathers

The addition of grape seed powder to the formulation caused a significant increase in the a\* values of the wild cornelian cherry fruit leather and increased the redness (P<0.05). For the blackthorn fruit leather, the addition of grape seed powder caused samples to have lower redness than the control samples. For the b\* (yellow-blue) parameter, the values were -0.56 to 0.86 for CC, CGS1 and CGS2 and 0.80-0.23 for SC, SGS1 and SGS2 fruit leathers. Blue was dominant for the wild cornelian cherry control sample, while the addition of grape seed powder caused a significant increase in the yellowness. The addition of grape seed powder to the blackthorn samples increased the b\* values. A study found the L\*, a\* and b\* values were 31.26, 0.98 and 14.59, respectively, for fresh blackthorn samples and reported the addition of grape seed powder to fruit leathers lowered the a\* and b\* values (Ozzengin et al., 2023). Another study obtained similar results for color values of fruit leathers

The color analysis results for fruit leather samples are shown in Figure 2. The CC, CGS1 and CGS2 fruit leather samples had L\* (sheen) values from 28.80 to 39.71, while SC, SGS1 and SGS2 samples varied from 28.65-36.66. leather. The increase in grape seeds in wild cornelian cherry fruit leather increased L\* and a\* values and increased the brightness and redness of the fruit leather (P<0.05). The l value of blackthorn leather containing 10% grape seed decreased and the a value increased. High grape seed usage resulted in leather with high redness and low brightness.

with added grape seeds and pulp (Özaltın & Çağındı, 2023).

### Sensory Assessment

The sensory analysis results for the fruit leather are given in Figure 3. There were statistically significant differences in the hardness, taste and general sensory points according to the grape seed powder proportion and fruit variety (P<0.05). There were reductions in scores linked to the increase in grape seed powder for both fruit varieties for the color, flavour, hardness, stickiness and general approval tests. The highest color scores were for the CC and SC samples. According to fruit variety, the color, taste, stickiness and general acceptability were similar to control samples for fruit leather samples containing 1% grape seed powder. Blackthorn fruit leathers received higher scores compared to wild cornelian cherry fruit leathers. Though the fruit leathers containing 10% grape seed powder received low scores, these were not below 3.5

and not at levels that could not be consumed.

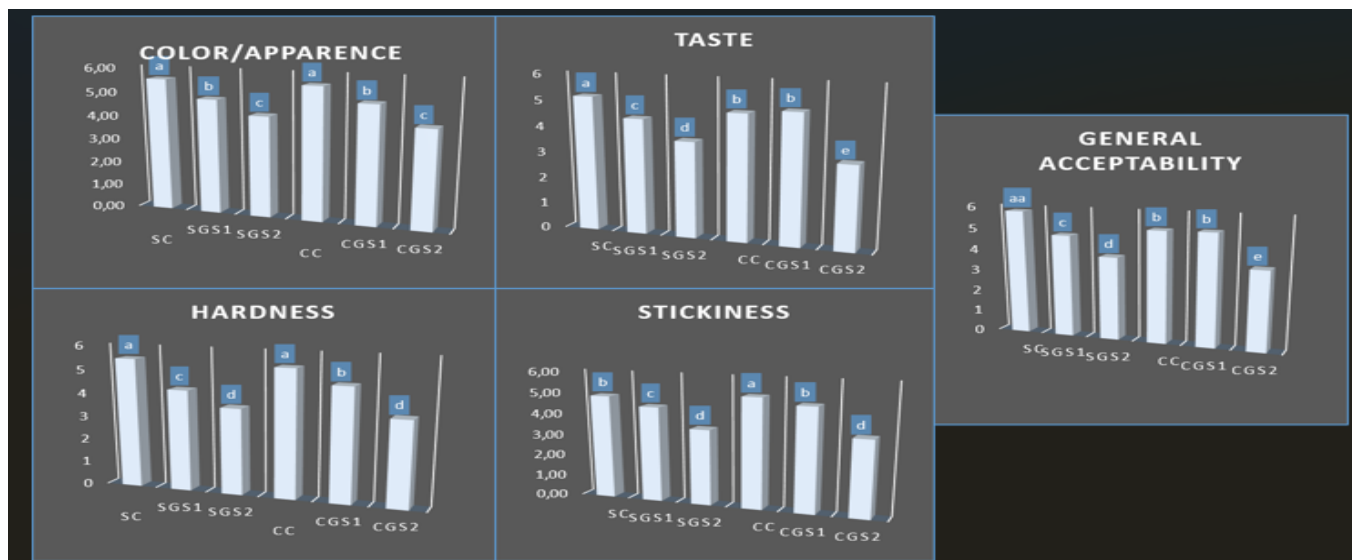


Figure 3. Sensory analysis results of cornelian cherry and blackthorn fruit leathers

## Conclusions

The results show that these wild fruits had significant differences in physical, chemical and antioxidant features. The grape seeds appear to provide good bioactivity to the protein, phenolic matter and antioxidant features of wild fruit leather. Additionally, the wild fruit leather and low grape seed content received high consumer approval in sensory terms. The sweet snack of fruit leather gained stronger nutritional and health aspects. In conclusion, enrichment of wild cornelian cherry and blackthorn fruit leathers with grape seed powder elevated their nutritional and functional quality and these products gained the potential to have high added value.

## Conflict of interest:

The authors declare that they have no conflict of interest.

## Author contributions:

The authors declare that they contributed to the article at equal rates.

## References

Akinnifesi, F., Jordaan, D., & Ham, C. (2005). Building opportunities for smallholder farmers to commoditize indigenous fruit trees and products in southern Africa: processing, markets and rural livelihoods. Book of abstracts. The global food and product chain-dynamics,

innovation, conflicts, strategies. University of Hohenheim, Deutscher Tropentag, Stuttgart-Hohenheim.

- Beres, C., Simas-Tosin, F. F., Cabezudo, I., Freitas, S. P., Iacomini, M., Mellinger-Silva, C., & Cabral, L. M. (2016). Antioxidant dietary fibre recovery from Brazilian Pinot noir grape pomace. *Food Chemistry*, 201, 145-152.
- Bogoeva, A. L., & Durakova, A. G. (2020). Sorption characteristics of full-fatted grape seeds flour of Bulgarian origin. *Journal of Agriculture and Food Research*, 2, 100026.
- da Silva Simão, R., de Moraes, J. O., Carciofi, B. A. M., & Laurindo, J. B. (2020). Recent advances in the production of fruit leathers. *Food engineering reviews*, 12, 68-82.
- Difonzo, G., Troilo, M., Allegretta, I., Pasqualone, A., & Caponio, F. (2023). Grape skin and seed flours as functional ingredients of pizza: Potential and drawbacks related to nutritional, physicochemical and sensory attributes. *LWT*, 114494.
- Igwe, E. O., & Charlton, K. E. (2016). A systematic review on the health effects of plums (*Prunus domestica* and *Prunus salicina*). *Phytotherapy Research*, 30(5), 701-731.
- Jeandet, P., Sbaghi, M., & Bessis, R. (1992). The production of resveratrol (3, 5, 4'-trihydroxystilbene) by grapevine in vitro cultures, and its application to screening for grey mould resistance. *Journal of Wine Research*, 3(1), 47-57.
- Kara, O. O., & Küçüköner, E. (2019). Geleneksel bir meyve çerezi: Pestil. *Akademik Gıda*, 17(2), 260-268.
- Kaya, S., & Kahyaoglu, T. (2005). Thermodynamic properties and sorption equilibrium of pestil (grape leather). *Journal of food engineering*, 71(2), 200-207.
- Maskan, A., Kaya, S., & Maskan, M. (2002). Effect of concentration and drying processes on color change of grape juice and leather (pestil). *Journal of food engineering*, 54(1), 75-80.
- Nizamlioglu, N. M., Yasar, S., & Bulut, Y. (2022). Chemical

- versus infrared spectroscopic measurements of quality attributes of sun or oven dried fruit leathers from apple, plum and apple-plum mixture. *LWT*, 153, 112420.
- Ozengin, B., Zannou, O., & Koca, I. (2023). Quality attributes and antioxidant activity of three wild plums from *Prunus spinosa* and *Prunus domestica* species. *Measurement: Food*, 100079.
- Özbek, A. (2010). Gümüşhane İlinde Pestil ve Köme Üretim ve Ticaretinin Ekonomik Analizi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü İktisat Ana Bilim Dalı Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi Tokat.
- Schuster, M. J., Wang, X., Hawkins, T., & Painter, J. E. (2017). A Comprehensive review of raisins and raisin components and their relationship to human health. *Journal of Nutrition and Health*, 50(3), 203-216.
- Sik, B., Ajtony, Z., Lakatos, E., & Székelyhidi, R. (2022). The effects of extraction conditions on the antioxidant activities, total polyphenol and monomer anthocyanin contents of six edible fruits growing wild in Hungary. *Heliyon*, 8(12), e12048.
- Singleton, VL, Orthofer, R, Lamuela-Raventos, RM (1999). Analysis of total phenols and other oxidation 374 substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. *Methods Enzymology*. 375 [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Stacewicz-Sapuntzakis, M., Bowen, P. E., Hussain, E. A., Damayanti-Wood, B. I., & Farnsworth, N. R. (2001). Chemical composition and potential health effects of prunes: a functional food? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 41(4), 251-286.
- Suna, S., Tamer, C. E., Inceday, B., Sinir, G. Ö., & Çopur, Ö. U. (2014). Impact of drying methods on physicochemical and sensory properties of apricot pestil.
- Şengül, M., Karataş, N., Zor, M., Topdaş, E., & Yılmaz, B. (2020). Chemical Compound Profile, Antioxidant Capacity and Some Physicochemical Properties of Pulp and Pestils produced from *Prunus salicina*. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 13(3).
- Tontul, I., & Topuz, A. (2019). Storage stability of bioactive compounds of pomegranate leather (pestil) produced by refractance window drying. *Journal of Food Process Engineering*, 42(2), e12973.
- Yavuz, B. (2019). Determination of the physicochemical, bioactive, rheological and sensory properties of pestil produced using different flours and optimization of its formulation. Gumushane University, Institute of Science and Technology, Department of Food Engineering, 111.
- Yıldız, O., Aliyazıcıoğlu, R., Şahin, H., Aydın, Ö., & Kolaylı, S. Ak dut *Morus alba* pekmezi, pestili ve kömesinin üretim metotları. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 1(1), 44-53.

# 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. İkiyden 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 yayınlandıkları 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 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.

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<sup>-1</sup>**, mg/l yerine **mg l<sup>-1</sup>** 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**

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](http://dx.doi.org/10.15666/aeer/1503_759770)

### **1.3. İki den 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: Pegema 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, Tebliđ 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 3<sup>rd</sup> 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 NH<sub>4</sub>:NO<sub>3</sub> ratio on the density of aphid [*Aphis* spp. (Hemiptera: Aphididae)] population in greenhouse lettuce. *1<sup>st</sup> 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](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](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

birakılarak 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](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.

Ikinci, 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 NH<sub>4</sub>:NO<sub>3</sub> 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 şahıslarla 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.*

<b>1. Yazarın Bilgileri</b>			
Adı SOYADI			
Kurum Adresi			
ORCID Numarası		Tarih	imza

<b>2. Yazarın Bilgileri</b>			
Adı SOYADI			
Kurum Adresi			
ORCID Numarası		Tarih	imza

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