



Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences

(Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi)

E-ISSN 2548-0006

JAES

AÇEH

30.06.2021

Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi

*Journal of Anatolian
Environmental and Animal Sciences*

Cilt/Volume 6 • Sayı/Number 2 • 2021



Sahibi

Prof. Dr. Bülent VEREP

Prof. Dr. Fikri BALTA

Sorumlu Yazı İşleri Müdürü

Baş Editör / Editor-in Chief

Prof. Dr. Bülent VEREP

Recep Tayyip Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölümü, Deniz Biyolojisi Anabilim Dalı, 53100 Rize, Türkiye

Baş Editör Yardımcıları / Co-Editor in Chief

Prof. Dr. Fikri BALTA

Prof. Dr. Turan YÜKSEK

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Hastalıklar Anabilim Dalı, Türkiye
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Güzel Sanatlar Tasarım ve Mimarlık Fakültesi, Bitki Materyali ve Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Türkiye

Editör Yardımcıları / Co-Editors

Prof. Dr. Nüket SIVRI, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Arzu Funda BAĞCIGİL, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Veterinerlik Fakültesi
Prof. Dr. Alper ÇİFTÇİ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Süleyman AKHAN, Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Tamer AKKAN, Giresun University, Fen-Edebiyat Fakültesi
Doç. Dr. Engin Derya GEZER, Karadeniz Teknik Ü, Orman Fakültesi

Editörler Kurulu / Editorial Boards

Prof. Dr. Ahmet ALP, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Athanasios KUNGOLOS, School of Engineering, Aristotle Univ. of Thessaloniki, Greece
Prof. Dr. Cemalettin ŞAHİN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Davut TURAN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Gökhan ABAY, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Güzel San. Tas. ve Mim. Fakültesi
Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Prof. Dr. Ilia TSACHEV, Trakia University Faculty of Veterinary Medicine
Prof. Dr. İhsan AKYURT, Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi (Emekli Öğretim Üyesi)
Prof. Dr. İlkyay Erdoğan ORHAN, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi
Prof. Dr. Junho JUNG, Korea University Env. Sci. and Eco. Eng.
Prof. Dr. Levent BAT, Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Mehmet Salih ÇELİKKALE, KTÜ Deniz Bilimleri Fakültesi (Emekli Öğretim Üyesi)
Prof. Dr. Muhammed TÜRKÖĞLU Çanakale 18 Mart Üniversitesi, Deniz Bil. ve Tek. Fakültesi
Prof. Dr. Muhammed BORAN, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Mustafa TÜRKMEN, Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Nurhayat ÖZDEMİR, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Nadir Başçınar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Orhan Karşlı, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Önder YILDIRIM, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Ricardo PEREZ ENRIQUEZ, Genetica Acuicola Programa de Acuicultura Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste Mexico.
Prof. Dr. Semih ENGİN İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Şengül A. KARAOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Şenol AKIN, Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi
Prof. Dr. Şevki Kayış Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Vagif ATAMOV, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Doç. Dr. Cengiz MUTLU, Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Doç. Dr. Emre ÇAĞLAK, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Ertuğrul AĞIRBAŞ, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Ertan Emek ONUK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Ferhat KALAYCI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Gökmen Zafer PEKMEZCİ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Doç. Dr. Huriye Arınan Karabulut, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. İlker Zeki KURTOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Serkan KORAL, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Mehmet AYDIN, Ordu Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. Yusuf BEKTAŞ, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Ertuğrul TERZİ, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Christina EMMANOÜL, Aristotle University of Thessaloniki School of Engineering
Dr. Tuba ERGÜL KALAYCI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Bölüm Editörleri / Section Editors

Prof. Dr. Ali BİLGİN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Ahmet Mutlu GÖZLER, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Erol ÇAPKIN, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Fatih İSLAMOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Prof. Dr. Nadir Başçınar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Prof. Dr. Ramazan SEREZLİ, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Prof. Dr. Serhat KÜÇÜKALİ, Çankaya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi
Prof. Dr. Temel ŞAHİN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Denizcilik Fakültesi
Doç. Dr. Aysun TÜRKMEN, Giresun Üniversitesi, Teknik Bilimler MYO
Doç. Dr. Cemalettin BALTACI, Gümüşhane Üniversitesi, Gıda Bilimleri ve Mühendisliği
Doç. Dr. Coşkun ERÜZ, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. Ekrem Şanver ÇELİK, Çanakale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deniz Bil. ve Tek. Fakültesi
Doç. Dr. Ayşegül ÇEBİ, Giresun Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. Fatih Şaban Beriş, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Doç. Dr. Hacer EMİRAL Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi
Doç. Dr. İlhan YANDI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Denizcilik Fakültesi
Doç. Dr. Kenan GEDİK, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. M. Mustafa AKİNER Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Doç. Dr. Raşan Evren MAZLUM, , Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Tülay ÇAĞATAY, Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Ülgen AYTan, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Ahmet Raif ERYAŞAR, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Gülbin FIRİDİN GAZI ÜNİVERSİTESİ, Fen bilimleri enstitüsü, Çevre ABD.
Dr. Arzu AYDIN UNCUMUSAOĞLU, Giresun Üniversitesi, Çevre Mühendisliği
Dr. Şükrü ÖNALAN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Muhammed DUMAN, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi
Dr. Erhan ÇİLOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Denizcilik Fakültesi
Dr. Engin Derya GEZER, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi
Dr. Fatma Delihan SONAY, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Gökhan KALAYCI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Hakan KARAOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Koray ÖZSEKER, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Enstitüsü
Dr. Oğuz KURDOĞLU, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi
Dr. Ayşe DEMİRBAŞ, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Mînevver ORAL, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Ög. Üyesi Salih KUMRU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Dr. Ög. Üyesi Şafak KALINDAMAR, Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi
Dr. Ömer Lütfü ÇORBACI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Güzel San. Tas. ve Mim. Fakültesi
Nimet Selda BAŞÇINAR, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü

Yönetim Yeri Adres / Address

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
Zihni Derin Yerleşkesi, Fener Mah., 53100, Rize / Turkey.

Tel: 90 464 223 33 85-1438 ve 1436

Fax: 90 464 223 41 18

İletişim: vrepoglu@gmail.com, anatolianacademiccience@hotmail.com

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Yayın Tarihi: 30.06.2021

Tüm hakları saklıdır. Bu Derginin tamamı ya da Dergide yer alan bilimsel çalışmaların bir kısmı ya da tamamı 5846 sayılı yasanın hükümlerine göre Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi sahibi yazılı izni olmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayımlanamaz.

İnternet Adreslerimiz / Web Addresses

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



İÇİNDEKİLER / TABLE OF CONTENTS

İçindekiler / Contents

Makale / Article Sayfa No/Page No

Selenyum ve Zeolitin Tatlı Su Balığı <i>Oreochromis niloticus</i> 'ta Doku Cıva Birikimi Üzerine Etkileri Effects of Selenium and Zeolite on Tissue Mercury Accumulation in Freshwater Fish <i>Oreochromis niloticus</i> Özge FIRAT & Ferit KARGIN	Araştırma Research	142-144 145-150
The Effects of Vitamins C and E on the Growth Performance of Guppy (<i>Poecilia reticulata</i>) Fry. C ve E Vitaminlerinin <i>Poecilia reticulata</i> Peters, 1860) Yavrularının Büyüme Performansı Üzerindeki Etkileri. Dilek ŞAHİN & Orhan ARAL	Research Araştırma	151-156
Organik bileşik olarak Altın çilek (<i>Physalis peruviana</i>) kabuk ve meyve özütü ile çiçek şekilli hibrit nanoyapıların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin incelenmesi ve bu nanoyapıların morfolojik karşılaştırılması. Comparison study of morphologic structures of synthesized hybrid nanoflowers using Goldenberry / Cape gooseberry (<i>Physalis peruviana</i>) and their antimicrobial activity on food pathogens. Ayşe DEMİRBAŞ	Araştırma Research	157-161
Removing of SARS-CoV-2 from Water and Wastewater with Membrane Technologies-A Brief Review. Membran Teknolojileriyle Su ve Atık Sudan SARS-CoV-2'nin Uzaklaştırılması-Kısa Bir Derleme	Review Derleme	162-169
Effects of Whey Protein on Biochemical Composition of Rainbow Trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>). Gökkuşluğu Alabalığının (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Biyokimyasal Bileşimi Üzerine Peynir Alt Suyu Proteinin Etkileri. Mikail ÖZCAN, Ünal İSPİR & Ayşegül ŞAHİN	Research Araştırma	170-173
Bakırın Tilapia'nın (<i>Oreochromis niloticus</i> Linnaeus, 1758) Kas Dokusunda Birikimi ve İyon Düzeyleri Üzerine Etkileri. The Effects of Copper on Ion Levels and Accumulation in Muscle Tissues of Tilapia (<i>Oreochromis Niloticus</i> Linnaeus, 1758). Hikmet Yeter ÇOĞUN & Ferit KARGIN	Araştırma Research	174-179
Broyler Beslemede Protein İhtiyacının Karşılmasında Yeni Bir Yaklaşım: Böcekler. A New Approach to Protein Requirements in Broiler Feeding: Insects. Fulya ODABAŞI & Derya YEŞİLBAG	Araştırma Research	180-187
Protective Effects of Zeolite (<i>Clinoptilolite</i>) on Copper Toxicity in Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>). Zeolitin (<i>Clinoptilolite</i>) Tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)'da Bakır Toksikitesi Üzerine Koruyucu Etkisi. Mustafa TÜRKMEN & Zühtü Mete DİNLER	Research Araştırma	188-194
Toprak ve Bitkilerde Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması: Bayburt İli Örneği. Investigation of Heavy Metal Pollution in Soil and Plants: The Case of Bayburt Province. Sinan KUL, Volkan GÜL & İbrahim CENGİZ	Araştırma Research	195-203
Antioxidant Potential of Chestnut Shell, Stinging Nettle, Kiwi Fruit and Citrus Fruit Extracts and Antimicrobial Effects Against Some Fish Pathogens. Kestane Kabuğu, İsrigan Otu, Kivi Meyvesi ve Narenciye Özütlelerinin Antioksidan Potansiyelleri ve Bazı Balık Patojenlerine Karşı Antimikrobiyal Etkileri Orhan KOBYA, Büşra KARA, Ercan UZUN-YAYLACI & Emre ÇAĞLAK	Research Araştırma	204-210
Removal of Chemical Oxygen Demand, Total Organic Carbon and Color from Textile Industry Wastewater by Using <i>Phanerochaete chrysosporium</i> (ME446). Tekstil Endüstri Atıksuyundan <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ile KOL, TOK ve Renk Giderimi. Numan YILDIRIM, Gökhan Önder ERGÜVEN & Aytekin ÇELİK	Research Araştırma	211-216
The Effect of Different Proportions of Rosehip (<i>Rosa canina</i> , L.) Oil Added to Rainbow Trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , L.) Feed on Growth Growth Performance. Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i> , L.) Yemlerine Eklenen Farklı Oranlardaki Kuşburnu (<i>Rosa canina</i> , L.) Yağının Büyüme Performansına Etkisi. Obey ALNAIEM & Hamdi AYDIN	Research Araştırma	217-223
Aksu Kayabalığı, Ponticola turani (Kovačić & Engin, 2008)'nin Sakkular Otolit Morfometrisi. Saccular Otolith Morphometry of Aksu Goby, Ponticola turani (Kovačić & Engin, 2008). Muhammet Mustafa SAKALLI & Savaş YILMAZ	Araştırma Research	224-231
A New Trout Species from Southern Marmara Sea Drainages (Teleostei: Salmonidae). Marmara Denizi'nin Güney Drenajından Yeni Bir Alabalık Türü (Teleostei: Salmonidae). Davut TURAN & Sadi AKSU	Research Araştırma	232-239
Antibacterial Effects of Boric Acid Against Aquatic Pathogens. Borik Asit'in Sucul Patojenler Üzerine Olan Antibakteriyel Etkileri. Ercan UZUN YAYLACI	Research Araştırma	240-244
Maskeli Örümcek Kuşunun (<i>Lanius nubicus</i> , Lichtenstein 1823) İklim Değişimi Etkisi Altındaki Dağılımı. Distribution of Masked Shrike (<i>Lanius nubicus</i> , Lichtenstein 1823) Under The Influence of Climate Change Akın KIRAÇ & Emrah ERTUĞRUL	Araştırma Research	245-251
Havza ve Arazi Karakteristiklerinin Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Yardımıyla Değerlendirilmesi: Pazar Hemşin Deresi Havzası Örneği. Evaluation of Basin and Land Characteristics using Geographic Information Systems (GIS): The Case of Pazar Hemşin Creek. Ali Erdem ÖZÇELİK & Turan YÜKSEK, Filiz YÜKSEK & Bülent VEREP	Araştırma Research	252-260
Giresun Kıyı Şeridindeki <i>Patella sp.</i> nin Et Kalitesi Değişiminin Mevsimsel Olarak Belirlenmesi. Determination of Seasonal Variation in the Meat Quality of <i>Patella sp.</i> from Giresun Region. Cengiz MUTLU, Fulya Gaye ŞEN & Selin KALKAN	Araştırma Research	261-265
Genetic Analysis of the Mitochondrial rns Gene of Zoonotic <i>Anisakis pegreffii</i> (Nematoda: Anisakidae) Isolated from <i>Micromesistius poutassou</i> (R.) in the Aegean Sea. Ege Denizi'ndeki <i>Micromesistius poutassou</i> 'dan (R.) İzole Edilen Zoonotik <i>Anisakis pegreffii</i> 'nin (Nematoda: Anisakidae) Mitokondriyal rns Geninin Genetik Analizi. Gökmen Zafer PEKMEZCİ	Araştırma Research	266-269
Morphometric Analysis of Sagittal Otoliths in Coruh Trout (<i>Salmo coruhensis</i> Turan, Kottelat & Engin, 2010). Coruh Alabalığı (<i>Salmo coruhensis</i> Turan, Kottelat & Engin, 2010)'nda Sagittal Otolitlerin Morfometrik Analizi. Recep YILDIZ & Savaş YILMAZ	Araştırma Research	270-277
Model Organizma <i>Galleria mellonella</i> L.' da Bakır Nanopartiküllerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi Evaluation of the Effects of Copper Nanoparticles on Oxidative Stress in the Model Organism <i>Galleria mellonella</i> L. Benay TUNÇSOY	Araştırma Research	278-284



Selenyum ve Zeolitin Tatlı Su Balığı *Oreochromis niloticus*'ta Doku Cıva Birikimi Üzerine Etkileri^[*]

Özge FIRAT^{1*} Ferit KARGIN²

¹ Adıyaman Üniversitesi, Kahta Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Adıyaman, Türkiye

² Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş/Received: 23. 10.2020

Kabul/Accepted: 24.03.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atıf yapmak için: Fırat, Ö. & Kargin, F. (2021). Selenyum ve Zeolitin Tatlı Su Balığı *Oreochromis niloticus*'ta Doku Cıva Birikimi Üzerine Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 145-150.

How to cite: Fırat, Ö. & Kargin, F. (2021). Effects of Selenium and Zeolite on Tissue Mercury Accumulation in Freshwater Fish *Oreochromis niloticus*. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 145-150.

<https://orcid.org/0000-0001-9010-955X>
 <https://orcid.org/0000-0003-4315-5689>

***Sorumlu yazarın:**

Özge FIRAT
Adıyaman Üniversitesi
Kahta Meslek Yüksekokulu, Adıyaman
 ozfirat@adiyaman.edu.tr

Öz: Cıvanın balıkları da içeren sucul organizmalar için tehlikeli bir çevresel kirletici olduğu iyi bilinmektedir. Cıvanın balıklardaki birikimi ve toksik etkileri hem bu organizmaları hem de besin zinciri aracılığıyla diğer canlıların sağlığını olumsuz etkileyeceğinden bu metalin toksik etkilerini azaltacak/önleyecek mekanizmalar ekosistemin sağlıklı işleyişi ve geleceği açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle sunulan çalışmada *Oreochromis niloticus*'un dokularındaki cıva birikimi üzerine selenyum ve zeolitin olası koruyucu etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla balıklar 0,01 ve 0,1 mg/L cıva; 0,01 mg/L cıva+0,1 mg/L selenyum, 0,1 mg/L cıva+1,0 mg/L selenyum ve 0,01 mg/L cıva+0,1 g/L zeolit, 0,1 mg/L cıva+1,0 g/L zeolit derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün süreler ile bırakılmış ve solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikimi belirlenmiştir. İncelenen tüm dokulardaki cıva birikiminin denenen tüm kimyasal gruplarında ortam derişimlerine ve etki sürelerine bağlı olarak arttığı saptanmıştır (P<0,05). Dokulardaki cıva birikiminin cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarında cıvanın tek başına etkisine oranla önemli bir şekilde azaldığı belirlenmiştir (P<0,05). Araştırmamız selenyum ve zeolitin *O. niloticus*'un dokularında cıva birikimini önemli düzeylerde azalttığını göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Birikim, cıva, *Oreochromis niloticus*, selenyum, zeolit.

Effects of Selenium and Zeolite on Tissue Mercury Accumulation in Freshwater Fish *Oreochromis niloticus*

Abstract: It is well known that mercury is a dangerous environmental pollutant for aquatic organisms including fish. Since accumulation and toxic effects of mercury in fish will negatively affect both these organisms and the health of other organisms through the food chain, the mechanisms to reduce or prevent the toxic effects of this metal are very important for the healthy functioning and future of the ecosystem. Therefore in the present study, it was investigated possible protective effects of selenium and zeolite on mercury accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus*. For this purpose fish were exposed to 0.01 and 0.1 mg/L mercury; 0.01 mg/L mercury+0.1 mg/L selenium, 0.1 mg/L mercury+1.0 mg/L selenium and 0.01 mg/L mercury+ 0.1 g/L zeolite, 0.1 mg/L mercury+1.0 g/L zeolite for 7 and 21 days and mercury accumulation in gill, liver and muscle tissues were measured. It was determined mercury accumulation in all examined tissues elevated depending on exposure periods and medium concentrations in all chemical groups tested (P<0.05). Mercury accumulation in tissues significantly reduced in mercury+selenium and mercury+zeolite mixtures than in exposure of mercury alone (P<0.05). Our research showed that selenium and zeolite significantly reduce mercury accumulation in the tissues of *O. niloticus*.

***Corresponding author's:**

Özge FIRAT
Adıyaman University
Kahta Vocational School, Adıyaman, Turkey
 ozfirat@adiyaman.edu.tr

Keywords: Accumulation, mercury, *Oreochromis niloticus*, selenium, zeolite.

[*] Bu çalışma, doktora tezinden üretilmiştir.

This study was produced from the doctora thesis.

GİRİŞ

Akuatik organizmalar sucul habitatlardaki ekolojik çeşitlilikleri ve ekonomik önemleri nedeniyle çevresel kirliliğin değerlendirilmesinde geniş çapta kullanılmaktadırlar (Fırat, 2016; Fırat & Tutus, 2020). Sucul organizmalar arasında balıkların ağır metal kirliliğinden en çok etkilenen canlı grubu olduğu birçok çalışmada (Aytekin & Kargın 2019; Çoğun & Kargın, 2020; Fırat & Kargın, 2010; Sipahi vd., 2013; Yılmaz vd., 2016) gösterilmiştir. Balıklar akuatik ortamın kalitesinin değerlendirilmesinde ve çevresel kirliliğin belirlenmesinde biyoidikatör türler olarak geniş çapta kullanılmaktadırlar (Fırat & Cesur, 2019). Ağır metaller sucul ortamdaki en önemli kirlenmelerden olup balıklar tarafından solungaç, bağırsak ve deri yoluyla alınmakta, metabolik olarak aktif doku veya organlarda birikmekte, moleküler ve hücresel düzeyde önemli hasarlara hatta ölümlere neden olabilmektedirler.

Cıva (Hg) yeryüzünde doğal olarak bulunan toksik bir metaldir. Erozyon ve volkanik patlamalar gibi doğal ve/veya endüstriyel ve tarımsal kullanımına bağlı olarak antropojenik kaynaklarla akuatik ekosistemlere girmektedir (Tchounwou vd., 2003). Hg'nin balıkları da içeren sucul organizmalar için tehlikeli bir çevresel kirlenici olduğu iyi bilinmektedir. Hg birçok balık türünde birikim göstererek böbrek ve karaciğer lezyonlarına, endokrin bozukluklarına ve merkezi sinir sistemindeki hücrelerin membranlarında değişikliklere neden olmaktadır (Lliopoulou-Georgudaki & Kotsanis, 2001).

Hg'nin aksine selenyum (Se) canlılar için gerekli bir iz elementtir. Se'nin önemli fonksiyonları, hücre büyümesi ve tiroid hormon metabolizmasındaki rollerine ve antioksidan özelliklerine atfedilmektedir (Kryukov vd., 2003; Rayman, 2002). Se canlı vücudunda birkaç element ile etkileşime girebilmektedir. Bu etkileşimler antogonistik ve sinerjik etkiler şeklinde oluşmaktadır. Se, Hg'i de içeren çeşitli ağır metallerin toksik etkilerine karşı detoksifiye edici bir etkiye sahiptir (Cogun vd., 2012; Fırat & Kaya, 2019).

Su ortamlarından ağır metal katyonlarının uzaklaştırılmasında, kimyasal presipitasyon, adsorpsiyon, solvent ekstraksiyonu, ters ozmoz, ultrafiltrasyon ya da iyon değiştirme gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Fergusson, 1990). Zeolitler iyon değiştirme yöntemlerinde en sık kullanılan minerallerdir. Zeolitler moleküler elek olarak bilinen mikro gözenekli katı madde ailesinin alümina silikat üyesi olarak ifade edilmektedir. Ağ şeklindeki kristal kafes yapısıyla geniş bir alana sahip olan zeolitler, çeşitli gazları, ağır metalleri, petrokimyasalları, düşük düzeyli radyoaktif elementleri absorblayıcı ya da adsorplayıcı özelliği olan bir maddedir (Mishra & Jain, 2011). Zeolitler, maliyeti düşük olmasından ve katyon değiştirme yeteneklerinden dolayı

özellikle sulardaki ağır metallerin giderilmesinde kullanılmaktadır (Orihuela vd., 2005). Ağır metaller ve zeolitler arasındaki etkileşimler genel olarak iyon değiştirme ve metal iyonlarını adsorplama şeklinde olmaktadır. Bu etkileşimler nedeniyle zeolitler serbest metal bulunabilirliğini azaltarak metallerin balıklara yapacağı olumsuz etkiyi engellemektedir.

Her geçen gün artan endüstriyel ve tarımsal aktivitelere bağlı olarak sucul ekosistemlerdeki Hg'yi de içeren ağır metal düzeyleri artış göstermektedir. Aquatik organizmalar arasında sucul ekosistemlerin önemli canlı grubu olan ve insanların birinci dereceden besinini oluşturan balıklar Hg kontaminasyonunun önemli hedef organizmalarındandır. Hg'nin balıklardaki birikimi ve toksik etkileri hem bu organizmaları hem de besin zinciri aracılığıyla diğer canlıların sağlığını olumsuz etkileyeceğinden bu metalin toksik etkilerini azaltacak/önleyecek mekanizmalar ekosistemin sağlıklı işleyişi ve geleceği açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle sunulan bu çalışmada, *Oreochromis niloticus*'ta cıva birikimi üzerine selenyum ve zeolit etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Sunulan çalışmada araştırma materyali olarak *Oreochromis niloticus* kullanılmıştır. Balıklar, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi balık yetiştirme havuzlarından alınarak laboratuvara getirilmiş ve içerisinde 120 L bekletilmiş çeşme suyu bulunan 40x140x40 cm ebatlarındaki stok cam akvaryumlarda üç ay süre ile bekletilerek ortam koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Bu süre içerisinde deneyde kullanılacak balıklar 12,07±0,21 cm boy ve 32,81±0,72 g ağırlığa ulaşmıştır. Deneyler 25±1 °C sıcaklıkta yürütülmüştür. Günde sekiz saat aydınlanma periyodu uygulanmış ve merkezi havalandırma sistemi ile akvaryumlar havalandırılmıştır. Balıklar, hazır balık yemiyle (Pınar Balık Yemi, Türkiye) beslenmiştir. Denemeler başlamadan iki gün önce yem kesilmiş, denemeler süresince balıklar vücut ağırlıklarının %2'si kadar yem ile günde iki defa beslenmiştir. Deney ortam suyunun kimyasal özellikleri; toplam sertlik 335,7±2,3 ppm CaCO₃, çözünmüş oksijen 7,49±0,15 mg/L, pH 8,21±0,07, akvaryum suyu sıcaklığı 21,11±0,20 °C olarak ölçülmüştür.

Deneylerde kullanılan cıva çözeltileri 1M cıva klorür [(HgCl₂)] (Sigma) stok çözeltisinden, selenyum çözeltileri 1M sodyum selenit [(Na₂SeO₃)] (Sigma) stok çözeltisinden ve zeolit çözeltileri (<75 mikron çapında, İstanbul Rota Madencilik AŞ) stok çözeltisinden seri seyreltmeler yöntemi ile hazırlanmıştır. Deneyler cıva, cıva + selenyum ve cıva + zeolit karışımları dikkate alınarak üç seri olacak şekilde yürütülmüştür. Deneyler her

bir seride içerisinde 12 adet balık bulunan üç cam akvaryumda yapılmıştır. Balıklar birinci seride cıvanın 0,01 mg/L ve 0,1 mg/L; ikinci cıva + selenyumun 0,01 mg/L Hg + 0,1 mg/L Se ve 0,1 mg/L Hg + 1,0 mg/L Se ve üçüncü seride ise cıva + zeolitin 0,01 mg/L Hg+0,1 g/L zeolit ve 0,1 mg/L Hg+1,0 g/L zeolit derişimlerinin etkisine 7 ve 21 gün sürelerle bırakılmıştır. Deneylerde birinci seride bulunan 3 akvaryumun ikisine 120 L farklı Hg çözeltileri; ikinci serideki 3 akvaryumun ikisine Hg+Se karışımları; üçüncü serideki 3 akvaryumun ikisine ise Hg+zeolit karışımları konulmuş, her serideki üçüncü akvaryuma ise 120 litre dinlenmiş çeşme suyu konarak kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler altı tekrarlı olarak ve her tekrarda bir balık kullanılarak yürütülmüştür. Dene akvaryumlarında kullanılan kimyasal çözeltilerinin derişimlerinde buharlaşma, adsorbsiyon ve akümülyasyon gibi nedenlerle değişim olabileceği dikkate alınarak çözeltiler birer gün arayla taze hazırlanan stok çözeltilerden uygun seyreltmeler yapılarak değiştirilmiştir.

Denenen süreler sonunda deney akvaryumlarından rastgele seçilen balıklar, çeşme suyuyla yıkanarak temizlenmiş, yüzeylerinde bulunan su damlacıkları kurutma kağıdıyla alınmış ve boy ve ağırlıkları saptanarak diseksiyona hazır hale getirilmiştir. Balıklar diseksiyondan önce spinal yapılarak öldürülmüştür. Steril aletlerle solungaç, karaciğer ve kas dokuları buz üzerinde disekte edilmiştir. Dokuların bir kısmı cıva analizleri için petri kabına konularak etüvde 72 saat süreyle 150 °C sıcaklıkta kurumaya bırakılmıştır. Sürenin sonunda dokuların kuru ağırlıkları alınarak cam tüplere aktarılmış ve üzerlerine sırayla 2 mL nitrik asit (Merck, %65, d:1,40) ve 1 mL perklorik asit (Merck, %60, d:1,53) eklenerek üç saat süre ile çeker ocakta yakılmıştır. Yakım işleminden sonra örnekler polipropilen tüplere aktararak distile su ile 10 mL'ye tamamlanmıştır (Liang vd., 1999). Hazırlanan örneklerdeki cıva düzeyi İndüktif olarak Birleştirilmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES, Perkin Elmer Optima 5300 DV) cihazında ölçülmüştür. Standart çözeltiler kullanılarak cihazın kalibrasyonu sağlanmıştır. Tüm örneklerdeki cıva için üç kez ölçüm yapılarak ortalamaları alınmıştır. Doku cıva düzeyleri µg/g kuru ağırlık (k.a.) olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS Statistics 21 paket programında Independent Sample t Testi kullanılarak yapılmıştır.

BULGULAR

Cıva, cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımının denenen tüm etki süresi ve ortam derişimlerinde *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve kas dokularında belirlenen cıva birikimleri Tablo 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + selenyum (mg/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki cıva düzeyi (µg/g k.a.).
Table 1. Mercury level (µg/g dw) in the tissues of *O. niloticus* exposed to of mercury (mg/L) and mercury (mg/L) + selenium (mg/L) mixture.

Dokular	7 gün	21 gün
Solungaç		
Kontrol	DA	DA
0,01 Hg	8,92±0,15 ^{ax}	24,19±0,21 ^{ay}
0,01 Hg + 0,1 Se	6,11±0,09 ^{bx}	17,25±0,12 ^{by}
Kontrol	DA	DA
0,1 Hg	20,12±0,44 ^{ax}	43,52±0,31 ^{ay}
0,1 Hg + 1,0 Se	13,95±0,21 ^{bx}	29,64±0,19 ^{by}
Karaciğer		
Kontrol	DA	DA
0,01 Hg	2,07±0,07 ^{ax}	6,04±0,14 ^{ay}
0,01 Hg + 0,1 Se	1,41±0,08 ^{bx}	4,43±0,08 ^{by}
Kontrol	DA	DA
0,1 Hg	5,96±0,18 ^{ax}	9,27±0,17 ^{ay}
0,1 Hg + 1,0 Se	4,21±0,06 ^{bx}	5,88±0,20 ^{by}
Kas		
Kontrol	DA	DA
0,01 Hg	0,19±0,02 ^{ax}	0,32±0,03 ^{ay}
0,01 Hg + 0,1 Se	0,11±0,02 ^{bx}	0,20±0,02 ^{by}
Kontrol	DA	DA
0,1 Hg	0,86±0,03 ^{ax}	1,27±0,05 ^{ay}
0,1 Hg + 1,0 Se	0,63±0,04 ^{bx}	0,85±0,02 ^{by}

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur (n=6). "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. "x ve y" harfleri ise aynı derişimdeki etkileşim süreleri arasındaki metal düzeylerinin ayrımını göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayırım olduğunu göstermektedir (P<0,05). DA: Duyarlılık düzeyinin altında.

7 ve 21 günlük süreler sonunda her iki ortam derişiminde de cıva+selenyum karışımlarının etkisindeki balıkların solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikiminin doğrudan cıvanın etkisine bırakılanlara oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 1). Dokulardaki bu azalmanın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır (P<0,05). Selenyumun varlığında incelenen tüm dokulardaki cıva birikimi önemli düzeylerde azalmıştır. 21. gün sonunda 0,1 mg/L Hg + 1,0 mg/L Se karışımındaki balıkların dokularındaki cıva birikimi 0,1 mg/L Hg etkisine oranla solungaçta %32, karaciğerde %37 ve kasta %33 düzeyinde azalmıştır. Aynı ortam derişiminde etki süresine bağlı olarak dokulardaki cıva birikiminin arttığı gözlenmiştir (Tablo 1, P<0,05). Solungaç, karaciğer ve kas dokularında süreye bağlı olarak gözlenen cıva düzeyindeki artışın, cıva+selenyum karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 0,1 mg/L Hg ve 0,1 mg/L Hg + 1,0 mg/L Se etkisinde 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda dokulardaki cıva düzeyi, sırasıyla, solungaçta %116 ve %112, karaciğerde %56 ve %39 ve kas dokusunda %48 ve %35 düzeyinde arttığı saptanmıştır.

Her iki etki süresi sonunda her iki ortam derişiminde cıva+zeolit karışımının etkisindeki balıkların tüm dokularındaki cıva birikiminin cıvanın tek başına etkisindeki balıklara oranla istatistiksel olarak daha düşük olduğu saptanmıştır (Tablo 2, P<0,05). 21 günlük süre sonunda yüksek cıva+zeolit karışımlarının etkisindeki balıkların dokularındaki cıva birikiminde yüksek cıva ortam derişiminin tek başına etkisine oranla solungaçta %20, karaciğerde %26 ve kasta %22 düzeyinde azalış

olduğu belirlenmiştir. Belirli bir ortam derişiminde etkileşim süresine bağlı olarak incelenen tüm dokularda cıva birikiminin arttığı saptanmıştır (Tablo 2, P<0,05). İncelenen tüm dokulardaki süreye bağlı olarak gözlenen cıva düzeyindeki artışın, cıva+zeolit karışımına oranla cıvanın tek başına etkisinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 0,1 mg/L Hg ve 0,1 mg/L Hg + 1,0 g/L Zeolit etkisinde 7 günlük süreye oranla 21 günlük süre sonunda dokulardaki cıva düzeyi, sırasıyla, solungaçta %116 ve %104, karaciğerde %56 ve %37 ve kas dokusunda %48 ve %45 düzeyinde artığı saptanmıştır.

Tablo 2 Cıva (mg/L) ve cıva (mg/L) + zeolit (g/L) karışımının etkisine bırakılan *O. niloticus*'un dokularındaki cıva düzeyi (µg/g k.a.).

Table 2. Mercury level (µg/g dw) in the tissues of *O. niloticus* exposed to of mercury (mg/L) and mercury (mg/L) + zeolite (g/L) mixture.

Doku	7 gün	21 gün
Solungaç		
Kontrol	DA	DA
0,01 Hg	8,92±0,15 ^{ax}	24,19±0,21 ^{ay}
0,01 Hg +0,1 Zeolit	7,25±0,07 ^{bx}	20,33±0,28 ^{by}
Kontrol	DA	DA
0,1 Hg	20,12±0,44 ^{ax}	43,52±0,31 ^{ay}
0,1 Hg + 1,0 Zeolit	17,09±0,13 ^{bx}	34,98±0,19 ^{by}
Karaciğer		
Kontrol	DA	DA
0,01 Hg	2,07±0,07 ^{ax}	6,04±0,14 ^{ay}
0,01 Hg +0,1 Zeolit	1,71±0,05 ^{bx}	5,12±0,08 ^{by}
Kontrol	DA	DA
0,1 Hg	5,96±0,18 ^{ax}	9,27±0,17 ^{ay}
0,1 Hg + 1,0 Zeolit	5,02±0,09 ^{bx}	5,12±0,08 ^{by}
Kas		
Kontrol	DA	DA
0,01 Hg	0,19±0,02 ^{ax}	0,32±0,03 ^{ay}
0,01 Hg +0,1 Zeolit	0,13±0,02 ^{bx}	0,26±0,02 ^{by}
Kontrol	DA	DA
0,1 Hg	0,86±0,03 ^{ax}	1,27±0,05 ^{ay}
0,1 Hg + 1,0 Zeolit	0,68±0,02 ^{bx}	0,99±0,03 ^{by}

Veriler Aritmetik ortalama±Standart hata şeklinde sunulmuştur (n=6). "a ve b" harfleri aynı dokudaki derişimler arasındaki metal düzeylerinin ayrımını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. "x ve y" harfleri ise aynı derişimdeki etkileşim süreleri arasındaki metal düzeylerinin ayrımını göstermek için kullanılmıştır. Farklı harfler, veriler arasındaki istatistiksel ayrım olduğunu göstermektedir DA: Duyarlılık düzeyinin altında.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Akuatik organizmalar arasında balıklar, çeşitli ağır metallerin zararlı etkilerine maruz kalmaları nedeniyle sucul ekosistemlerdeki metal kirliliğinin izlenmesinde en önemli organizmalar olarak kullanılmaktadırlar (Van der Oost vd., 2003). Balıklar ağır metallere kontaminasyon süreçlerinde, metallerin ya doğrudan solungaç epiteli ve deri yoluyla veya dolaylı olarak bağırsaklar aracılığıyla biyolojik bariyerleri geçerek vücuda alındığı ve solungaç, karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif dokularda biriktiği belirlenmiştir (Mzimela vd., 2003). Bu nedenle toksik metallerin alımı ve birikiminin kontrolü, canlı organizmalar için oldukça önemlidir. Sudaki besin zincirinin önemli bir ögesi olan balıklar üzerinde olumsuz bir etkinin oluşması, ekosistemin geleceği için risk oluşturacağından balıklarda cıva birikiminin ve toksik etkilerinin çalışılması önemlidir. Balıklar, sudaki besin zincirinin son halkasını oluşturmaları ve insanlar

tarafından besin kaynağı olarak tüketilmesi nedeniyle, birçok ekotoksikolojik çalışma balıklardaki ağır metal birikiminin belirlenmesine yönelik olarak yapılmıştır (Çogun vd., 2006; Fırat, 2016; Fırat vd., 2009).

Tilapia (*Oreochromis* sp.) dünyada yaygın şekilde kültürü yapılan tatlı su balıklarından birisidir. Ekotoksikolojik çalışmaların çoğunda bu tür, akuatik ekosistemlerdeki kirleticilerin etkilerini değerlendirmek amacıyla kullanılmaktadır. Tilapia yüksek büyüme hızı, farklı diyetlere adaptasyondaki yeteneği, hastalıklara ve taşıma esnasındaki streslere direnç göstermeleri, kolay üremeleri ve ağır metal stresini de içeren çeşitli toksik maddelere karşı geniş tolerans yeteneği gibi farklı özellikleri nedeniyle toksikolojik çalışmalarda kullanılan iyi bir biyolojik modeldir (Fontainhas-Fernandes, 1998).

Balık solungaçları, yalnızca bir solunum organı değil aynı zamanda ozmoregülasyon ve boşaltım gibi çeşitli fizyolojik fonksiyonların da yürütüldüğü bir dokudur. Solungaçlar suda çözülmüş metal iyonların alınmasında ve birikiminde önemli bir dokudur. Solungaç dokusunun sudaki metalin alınımında ilk yol olduğu iyi bilinmektedir. Solungaçlar su için geniş yüzey alanına sahip olması, su ile kan arasındaki difüzyon mesafesinin kısa olmasına bağlı olarak dış ve iç ortam arasında çok yakın bir temasın oluşmasını sağlayan bir doku olarak önem taşımaktadır (Fırat vd., 2009). Tüm organizmalarda karaciğer, temel metabolik olaylarda işlevi olan ve genelde toksik maddelerin parçalanması, atılımı, biyotransformasyonu ve birikimde esas organ olarak işlev görmektedir. Solungaç, karaciğer ve böbrek gibi metabolik olarak aktif dokular kas gibi diğer dokulara oranla daha fazla metal biriktirebilmektedirler (Fırat, 2016). Önceki çalışmalarla benzer şekilde araştırmamızda da kas dokusuna oranla solungaç ve karaciğerin daha yüksek miktarlarda cıva biriktirdiği belirlenmiştir.

Araştırmamızda *O. niloticus*'un tüm dokularında cıva birikiminin cıvanın tek başına etkisine oranla Hg+Se karışımlarında anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır. Selenyumun balıklarda cıva alımı ya da atılım oranlarını etkileyerek dokulardaki metal birikimini azalttığı düşünülmektedir. *Oncorhynchus mykiss*'te intraperitoneal olarak verilen Hg'nın dokularda birikimi üzerine besin yoluyla verilen Se'nin etkisinin incelendiği bir çalışmada dokulardaki Hg birikiminin Se varlığında azaldığı saptanmıştır (Bjerregaard vd., 1999). Araştırmacılar bu azalmanın selenyumun cıvanın vücuttan atılımını sağlayarak gerçekleştirdiğini ve bu nedenle selenyumun cıvanın alımını engellemesinden çok atılımını sağlayarak Hg birikimini azalttığını belirtmişlerdir. *Danio rerio*'da vücuttaki cıva birikiminin yaklaşık %15'nin selenyum uygulamasından sonra 48 saat içinde vücuttan atıldığı rapor edilmiştir (Bjerregaard vd., 2011). *Perna viridis* türü midyelerde Hg'nın birikimi üzerine Se etkisinin

araştırıldığı çalışmada selenyumun varlığında dokulardaki Hg birikiminin önemli oranlarda azaldığı belirlenmiştir (Wang vd., 2004). Araştırmacılar selenyumun Hg toksitesi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki cıva birikiminin cıvanın tek başına etkisine oranla cıva+zeolit karışımlarında anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Zeolitın iyon değiştirme yeteneği ve moleküler elek özelliğine sahip olması nedeniyle ortamdaki serbest cıva bulunurluğunu azaltarak dokulardaki cıva birikimini düşürdüğü düşünülmektedir. Zeolitlerin ağır metallere karşı ilgisi çok yüksektir. Bazı araştırmalarda katyon değiştirebilme yeteneklerinden dolayı zeolitlerin sucul ortamlardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanıldığı birçok araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Cogun & Sahin, 2012; Mishra & Jain, 2011). Zeolitlerin etkisiyle akuatik ekosistemlerdeki ağır metal derişiminin azalması sonucu balık dokularındaki metal düzeylerinin de azaldığı belirtilmiştir (Shrivastava vd., 2001).

Yapılan birçok çalışmada zeolit varlığında dokularda metallerin birikim düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir. Kurşun ve kurşun+zeolit karışımlarının etkisine bırakılan *Cyprinus carpio*'nun dokularında kurşun düzeylerinin kurşunun tek başına etkisine oranla zeolit ile birlikte etkisinde azaldığı rapor edilmiştir (Tepe vd., 2004). *O. niloticus*'ta bakır birikimi üzerine zeolitın etkisinin araştırıldığı çalışmada dokulardaki Cu birikiminin Cu'nun tek başına etkisine oranla Cu+Zeolit karışımlarının etkisinde azaldığı saptanmıştır (Dinler, 2005). Araştırmacılar, zeolitın iyon değiştirme yeteneği nedeniyle su ortamındaki bakırın serbest bulunurluğunu azaltarak Cu birikimini azalttığını belirtmişlerdir. Pb ve Pb+zeolit farklı ortam derişimlerin etkisinde *O. niloticus*'un karaciğer, solungaç, böbrek ve kas dokularındaki kurşun birikimini araştırıldığı bir çalışmada Pb düzeyinin ortam derişimi ve sürenin artışına bağlı olarak tüm dokularda arttığını ancak bu artışın metabolik olarak daha aktif olan solungaç, böbrek ve karaciğer dokularında kasa oranla daha yüksek olduğunu gözlemlemişler (Cogun & Sahin, 2012). Araştırmacılar, tüm dokulardaki Pb birikiminin Pb+zeolit karışımları etkisinde Pb'nin tek başına etkisine oranla daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Cu ve Cd'nin tek başlarına ve Ca ve zeolit ile birlikte etkisinde *O. niloticus*'un solungaç, karaciğer ve böbrek dokularındaki metal birikimleri ile ilgili yapılan bir çalışmada metal birikiminin metallerin tek tek etkilerine oranla metal+Ca ve metal+zeolit derişimlerinde azaldığı ve Ca ile zeolitın metallerin biyobirikimi üzerine koruyucu bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Çimrin Reyhan, 2014).

Sonuç olarak sunulan çalışmada incelenen tüm dokulardaki cıva birikiminin denenen tüm kimyasal gruplarında ortam derişiminin artışı ve sürenin uzamasına

bağlı olarak arttığı ve dokulardaki en yüksek metal birikiminin solungaçlarda en az birikimin ise kasta olduğu saptanmıştır. Dokulardaki cıva birikiminin cıva+selenyum ve cıva+zeolit karışımlarında cıvanın tek başına etkisine oranla önemli bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. Araştırmamız selenyum ve zeolitın *O. niloticus*'un dokularında cıva birikimini önemli düzeylerde azalttığını göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma YÖK Ulusal Tez Merkezi Referans Nosu "414359" olan Doktora tez çalışmasından üretilmiştir. Bu araştırma FEF2012D1 nolu Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi ile yürütülmüştür.

KAYNAKLAR

- Aytekin, T. & Kargın, F. (2019).** Effect of copper on G6PD activity in the liver, gill, kidney and muscle tissues of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(2), 60-63. DOI: [10.35229/jaes.537019](https://doi.org/10.35229/jaes.537019)
- Bjerregaard, P., Andersen, B.W. & Rankin, J.C. (1999).** Retention of methyl mercury and inorganic mercury in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (W): effect of dietary selenium. *Aquatic Toxicology*, **45**, 171-180. DOI: [10.1016/S0166-445X\(98\)00099-X](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(98)00099-X)
- Bjerregaard, P., Fjordside, S., Hansen, M.G. & Petrova, M.B. (2011).** Dietary selenium reduces retention of methyl mercury in freshwater fish. *Environmental Science and Technology*, **45**, 9793-9798. DOI: [10.1021/es202565g](https://doi.org/10.1021/es202565g)
- Cogun, H. Y., Firat, Ö., Firat, Ö., Yuzereroglu, T. A., Gok, G., Kargın, F. & Kotemen, Y. (2012).** Protective effect of selenium against mercury induced toxicity on hematological and biochemical parameters of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **26**(3), 117-122.
- Cogun, H.Y. & Sahin, M. (2012).** The effects of zeolite on reduction of lead toxicity in Nil tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus, 1758). *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **18**, 135-140.
- Cogun, H.Y., Yuzereroglu, T.A., Firat, Ö., Gök, G. & Kargın, F. (2006).** Metal concentrations in fish species from the northeast Mediterranean Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, **121**, 431-438. DOI: [10.1007/s10661-005-9142-0](https://doi.org/10.1007/s10661-005-9142-0)
- Çimrin Reyhan, İ. (2014).** *Oreochromis niloticus*'da bakır ve kadmiyum birikiminde kalsiyum ve zeolitın etkileri. Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kilis, Türkiye, 44 s.
- Çoğun, H.Y. & Kargın, F. (2020).** Copper accumulation and Na/K ion levels in gill tissue of *Cyprinus carpio*. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(3), 313-317. DOI: [10.35229/jaes.749347](https://doi.org/10.35229/jaes.749347)
- Dinler, Z.M. (2005).** Zeolit (clinoptilolite) Tilapia'da (*Oreochromis niloticus*) bakır toksitesi üzerine koruyucu etkisi. Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay, Türkiye, 63 s.

- Fergusson, J.E. (1990).** *The heavy elements: chemistry environmental impact and health effects*, Pergamon Oxford.
- Firat, Ö. & Bozat, R.C. (2019).** Assessment of biochemical and toxic responses induced by titanium dioxide nanoparticles in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Human and Ecological Risk Assessment*, **25**(6), 1438-1447. DOI: 10.1080/10807039.2018.1465338
- Firat, Ö. & Kargin, F. (2010).** Protein intensity changes in the hemoglobin and plasma electrophoretic patterns of *Oreochromis niloticus* in response to single and combined Zn and Cd exposure. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **24**, 395-401. DOI: 10.1002/jbt.20352
- Firat, Ö. & Kaya, Ö. (2019).** Evaluation of protective role of selenium on mercury toxicity by superoxide dismutase, catalase and malondialdehyde parameters in *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **36**(3), 245-253. DOI: 10.12714/egejfas.2019.36.3.05
- Firat, Ö. & Tutus, R. (2020).** Comparative acute toxicity assessment of organophosphate and avermectin insecticides on a freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **105**, 582-587. DOI: 10.1007/s00128-020-02990-y
- Firat, Ö. (2016).** Evaluation of metal concentrations in fish species from Atatürk Dam Lake (Adiyaman, Turkey) in relation to human health. *Fresenius Environmental Bulletin*, **25**(9), 3629-3634.
- Firat, Ö., Cogun, H.Y., Aslanyavrusu, S. & Kargin, F. (2009).** Antioxidant responses and metal accumulation in tissues of *Oreochromis niloticus* under Zn, Cd and Zn+Cd exposures. *Journal of Applied Toxicology*, **29**, 295-301. DOI: 10.1002/jat.1406
- Fontainhas-Fernandes, A.A. (1998).** Tilapia production, in: M.A. Reis- Henriques (Ed.), *Aquaculture Handbook*, pp. 135-150.
- Kryukov, G.V., Castellano, S., Novoselov, S.V., Lobanov, A.V., Zehtab, O. & Guigo, R. (2003).** Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science*, **300**, 1439-1443. DOI: 10.1126/science.1083516
- Liang, Y., Cheung, R.Y.H. & Wong, M.H. (1999).** Reclamation of wastewater for polyculture of freshwater fish: Bioaccumulation of trace metals in fish. *Water Research*, **33**, 2690-2700. DOI: 10.1016/S0043-1354(98)00473-4
- Lliopoulou-Georgudaki, I.J. & Kotsanis, N. (2001).** Toxic effects of cadmium and mercury in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a short-term bioassay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **66**, 77-85. DOI: 10.1007/s0012800208
- Mishra, M. & Jain, S.K. (2011).** Properties and applications of zeolites: A Review. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **81**, 250-259.
- Mzimela, H.M., Wepener, V. & Cyrus, D.P. (2003).** Seasonal variation of selected metals in sediments, water and tissues of the groovy mullet, *Liza dumerelii* (Mugilidae) from the Mhlathuze Estuary, South Africa. *Marine Pollution Bulletin*, **46**, 659-676. DOI: 10.1016/S0025-326X(03)00088-2
- Orihuela, D., Meichtry, V., Pregi, N. & Pizarro, M. (2005).** Short-term oral exposure to aluminium decreases glutathione intestinal levels and changes enzyme activities involved in its metabolism. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **99**, 1871-1878. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2005.06.029
- Rayman, M.P. (2002).** The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of the Nutrition Society*, **61**, 203-221. DOI: 10.1079/PNS2002153
- Shrivastava, S., Mishra, M. & Jain, S.K. (2001).** Remediation of lead toxicity in fish tissues through zeolite with reference to glycogen content. *Journal of Natcon*, **13**(2), 231-235.
- Sipahi, N., Mutlu, C. & Akkan, T. (2013).** Giresun İlinde tüketime sunulan bazı balıklardan izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri. *Gıda*, **38**(6), 343-349.
- Tchounwou, P.B., Ayensu, W.K., Nnashvili, N. & Sutton, D. (2003).** Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environmental Toxicology*, **18**, 149-175. DOI: 10.1002/tox.10116
- Tepe, Y., Akyurt, I., Ciminli, C., Mutlu, E. & Caliskan, M. (2004).** Protective effect of clinoptilolite on lead toxicity in common carp *Cyprinus carpio*. *Fresenius Environmental Bulletin*, **13**, 639-642.
- Van Der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **13**, 57-149. DOI: 10.1016/S1382-6689(02)00126-6
- Yilmaz, M., Teber, C., Akkan, T., Er, C. & Kariptas, E. (2016).** Determination of heavy metal levels in different tissues of tench (*Tinca tinca* L., 1758) from Siddikli Kucukbogaz dam lake (Kirsehir), Turkey, Fresen. *Environ. Bull.*, **25**, 1972-1977.
- Wang, W., Wong, R.S.K., Wang, J. & Yen, Y. (2004).** Influences of different selenium species on the uptake and assimilation of Hg (II) and methylmercury by diatoms and green mussels. *Aquatic Toxicology*, **68**, 39-50. DOI: 10.1016/j.aquatox.2004.02.003



The Effects of Vitamins C and E on the Growth Performance of Guppy (*Poecilia reticulata*) Fry^{1*}

Dilek ŞAHİN* Orhan ARAL²

¹ Sinop University, Vocational School, 57000 Sinop, Turkey.

² Sinop University, Fisheries Faculty, 57000 Sinop, Turkey.

Geliş/Received: 18.01.2021

Kabul/Accepted: 24.03.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Şahin, D. & Aral, O. (2021). The Effects of Vitamins C and E on the Growth Performance of Guppy (*Poecilia reticulata*) Fry. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(4), 151-156.

Atf yapmak için: Şahin, D. & Aral, O. (2021). C ve E Vitaminlerinin Lepistes (*Poecilia reticulata* Peters, 1860) Yavrularının Büyüme Performansı Üzerindeki Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(4), 151-156.

* <https://orcid.org/0000-0003-4454-9030>

<https://orcid.org/0000-0001-8550-9970>

*Corresponding author's:

Dilek ŞAHİN
Sinop University, Vocational School, 57000
Sinop, Turkey.
 dsahin@sinop.edu.tr

Abstract: This study was carried out to evaluate the effects of water-soluble vitamin C and fat-soluble vitamin E on the growth of guppy (*Poecilia reticulata*). The control feed did not contain vitamin C and E, while the other 15 experimental feeds were prepared by changing the amount of starch, without altering the chemical structure, and adding vitamin C (100, 500, 1000 mg/kg) and vitamin E (75, 150, 300 mg/kg) in various levels. At the end of the trial had an ascending amount of both vitamin C and E in the diet and resulted with an increase in the developmental parameters in the offspring of guppies ($P<0.05$). Among the experimental groups, the lowest feed conversion ratio was observed in group 16 (1000 mg vitamin C/kg+300 mg vitamin E/kg), and the highest was in group 1 (the control) ($P<0.05$). Differences between the groups, in which mortalities occurred, and the remaining groups, were found to be statistically significant ($P<0.05$). In addition, it was determined after a three month trial the group 16 of guppies had reached maturity, and juvenile. According to the results of this study, there is an increase in growth and survival of fry as the amount of vitamin C and E added in feed increases. The present study shows that a dosage of 1000 mg kg⁻¹ vitamin C+300 mg kg⁻¹ vitamin E has a beneficial effect on guppy growth parameters and survival rate.

Keywords: Feeding, growth, guppy, vitamin C, vitamin E.

C ve E Vitaminlerinin Lepistes (*Poecilia reticulata*) Yavrularında Büyüme Performansı Üzerindeki Etkileri

Öz: Bu çalışmada, suda eriyen C vitamini ile yağda eriyen E vitamininin lepistes (*Poecilia reticulata*) büyümesi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Kontrol yemi içerisinde Vitamin C ve E katkı maddeleri bulunmaz iken, diğer yem gruplarında nişasta miktarı değiştirilerek kimyasal yapı değiştirilmeksizin farklı miktarlarda Vitamin C (100, 500, 1000 mg/kg) ve vitamin E (75, 150, 300 mg/kg) ilavesi ile 15 adet deneme yemi hazırlanmıştır. Deneme yemindeki vitamin C ve E miktarları artış gösterdikçe lepistes yavrularının büyüme parametreleri de artış göstermiştir ($P<0.05$). Deneme grupları arasında en düşük yem değerlendirme oranının 16. grupta (1000 mg vitamin C/kg+300 mg vitamin E/kg), en yüksek yem değerlendirme oranının ise 1. (Kontrol Grubu) grupta olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). Ölü balıkların tespit edildiği gruplarla diğer gruplar arasında istatistiki açıdan önemli farklılık olduğu bulunmuştur ($P<0.05$). Ayrıca 3 aylık deneme sonunda 16. gruptaki balıklar tamamen cinsi olgunluğa eriştiği ve yavru verdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre, yemlere ilave edilen C ve E vitamini miktarları arttıkça yavruların büyümelerinde ve yaşama oranlarında artış olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma, 1000 mg kg⁻¹ C vitamini+300 mg kg⁻¹ E vitamini dozajının lepistes balıklarının büyüme parametreleri ve yaşama oranı üzerinde yararlı etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Besleme, büyüme, lepistes, vitamin C, vitamin E.

*Sorumlu yazar:

Dilek ŞAHİN
Sinop Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu,
57000 Sinop, Türkiye
 dsahin@sinop.edu.tr

^{1*} This research was produced from doctorate thesis.

INTRODUCTION

Like every living being, fish need good living conditions and a balanced diet to sustain their vital activities (Hoşsu et al., 2003). The primary element comprising their nourishment is fish feed, containing essential nutrition compounds. The feed contains carbohydrate, protein, fat, minerals, and vitamins. Furthermore, various additives may be used in the making of fish feed (Arıman & Aras, 2002; Hoşsu et al., 2003).

Vitamins are organic compounds that are not particularly required in high levels but are essential for healthy growth, reproduction, and other bodily functions (Akyurt, 2004). Vitamins, apart from growth and reproduction activities, are also among the indispensable substances for the healthy development of fish. The principal vitamins which ensures the reproduction process and constitutes the fundamentals of fish farming, are vitamin A, B1, B6, C, and E (Hunt et al., 2004; Sealey & III Gatlin, 2002).

Natural foods are rich in vitamins, however, that is not the case with artificial fish feed. Vitamin requirement of fish varies depending on the species (Shiau & Hsu, 2002). The feed consumed during the spawning and growing periods of fish must contain various vitamins (especially vitamin E and C). Vitamin E is effective in the oogenesis and the formation of the extraembryonic membrane. It is known that vitamin C also affects reproduction (Emata et al., 2000; Lee & Dabrowski 2004; Santiago & Gonzal, 2000). Among vitamins, C and E have a great effect both on fish metabolism and the fish feed. Vitamin E and C have a significant interaction (Frischknecht et al., 1994). Other vitamins in the fish body also interact with each other. Vitamin E and C, especially, work as intracellular antioxidants. Vitamin C reduces the usage of vitamin E by decreasing lipid peroxidation in the cell membrane. Moreover, adding vitamin E and C combined to the fish feed during the spawning period increases the reproductive performance, spawn efficiency, and growth rate of the fish (El-Gamal et al., 2007; Emata et al., 2000; Hamre et al., 1997; James & Vasudhevan, 2011; Santiago & Gonzal, 2000).

The supply of aquarium fish is carried out mostly from nature. Moreover, the decline in fish populations and the constraint on natural resources have led certain ornamental fish trading countries, like Singapore, to industrialization by establishing new fish farms cultivating especially tropical livebearing fish (guppy, swordtail, molly, etc.). Thus, this situation paved the way to determine the nutrition requirements of ornamental fish. The prioritized matter was the maximum growth rate in commercial farms. Subsequent goals at hand were coloration, the development

of gonad, and ensuring the fish reach their market size as fast as possible (Sales & Janssens, 2003).

Guppy (*Poecilia reticulata* Peters, 1860) is amongst the multi-colored fish species in the Poeciliidae family. Guppies are economically important ovoviviparous fish that constitute a large portion of the ornamental fish culture industry. The species is omnivores and *Poecilia reticulata* feeds on zooplankton, detritus and larvae of small insects in nature (Harpaz et al., 2005; Lawal et al., 2012). In this study, the effects of vitamins C and E on the growth performance of guppy fry were investigated and the requirement of the mentioned vitamins was evaluated.

MATERIAL AND METHOD

Fish and experimental design: The study was conducted in Sinop University Fisheries Faculty. Guppy fry were obtained from Akdeniz Fisheries Research, Production, and Education Institute (Kepez, Antalya, Turkey). Fish were acclimated to treatment conditions for 2 weeks prior to the beginning of the feeding trial. A total of 720 fish were obtained and placed into 48 aquaria (dimensions: 20x35x15 cm, volume: 10 L) in triplicate (16 groups in total). Groups are formed according to the amount of vitamins they contain:

- Group1: 0 mg vitamin C/kg+0 mg vitamin E/kg,
- Group2: 0 mg vitamin C/kg+75 mg vitamin E/kg,
- Group3: 0 mg vitamin C/kg+150 mg vitamin E/kg,
- Group4: 0 mg vitamin C/kg+300 mg vitamin E/kg,
- Group5: 100 mg vitamin C/kg+0 mg vitamin E/kg,
- Group6: 500 mg vitamin C/kg+0 mg vitamin E/kg,
- Group7: 1000 mg vitamin C/kg+0 mg vitamin E/kg,
- Group8: 100 mg vitamin C/kg+75 mg vitamin E/kg,
- Group9: 500 mg vitamin C/kg+75 mg vitamin E/kg,
- Group10: 1000 mg vitamin C/kg+75 mg vitamin E/kg,
- Group11: 100 mg vitamin C/kg+150 mg vitamin E/kg,
- Group12: 500 mg vitamin C/kg+150 mg vitamin E/kg,
- Group13: 1000 mg vitamin C/kg+150 mg vitamin E/kg,
- Group14: 100 mg vitamin C/kg+300 mg vitamin E/kg,
- Group15: 500 mg vitamin C/kg+300 mg vitamin E/kg,
- Group16: 1000 mg vitamin C/kg+300 mg vitamin E/kg.

Each group consisted of 15 individuals. At the beginning of the experiment, the fish were weighed individually with a KERN brand EW420-3NM model scales (initial mean body weight: 0.011±0.02 g). Fish were fed with powder feeds (suitable for mouth size) *ad libitum* twice a day during the experiment. Temperature of the aquarium unit was set to 24±1°C throughout the experiments using an air conditioner. The aquariums were siphoned twice a week to remove fish feces and feed residues and water level in aquariums was completed with the addition of water at the same temperature. Aeration was carried out using an air stone.

During the following three months (90 days) experimental period, water temperature, dissolved oxygen, and pH were measured by using a YSI instrument

(Professional Plus Multiparameter, USA) and maintained at 24 ± 1 °C, 8.81 ± 0.00 mg/L, and 6.81 ± 0.00 , respectively. Daylight photoperiod as 12:12 h (light:dark) was applied in the experiment.

Fish were weighed individually to determine their average weight in the beginning and in the end of the experiment. Dead fish were recorded daily.

Experimental diets: The raw materials in the experimental feed were obtained from SİBAL Inc. and vitamins were obtained from DSM – Nutritional Products. The experimental feed contained fishmeal, soybean meal, sunflower seed meal, starch, maize protein, fish oil, a mixture of minerals and vitamins (A, B1-Thiamin, B2-Riboflavin, B3-Niacin, B6-Pyridoxine, B12-Cobalamin, C-Ascorbic acid, D, E, K) as raw materials. The control feed did not contain vitamin C and E, while the other 15 experimental feeds were prepared by changing the amount of starch, without altering the chemical structure, and adding vitamin C (100, 500, 1000 mg/kg) and vitamin E (75, 150, 300 mg/kg) in various levels. The vitamin levels used in the trial were determined based on the literature data (Blom & Dabrowski, 2000; Emata et al., 2000; Gouillou-Coustans et al., 1998; Hamre et al., 1997; Izquierdo et al., 2001; Lim et al., 2002; Wang et al., 2003). The raw materials added to cover the targeted nutritional values for the experiment were combined and mixed in dry form. Then, after adding fish oil and mixing again, 25-35% water was added to the mixture, after the vitamins were added to the feeds, the wet trial feeds were dried in a drying cabinet at 50°C for about 6 hours. The reason for keeping the temperature and time low is to minimize the losses that may occur in vitamins. Feeds were used in powder form in accordance with the mouth size. Composition of the basal diet used in the study is given in Table 1. Analyses regarding the amount of nutrients were conducted by SİBAL Inc., and determination of vitamin C and E levels were conducted by TÜBİTAK Marmara Research Center.

Table 1. Composition of the basal diet (g/100g).

Ingredient	Amount
Fishmeal	28
Soybean Meal	21
Sunflower Seed Meal	22
Maize Protein	4.5
Starch	18.5
Fish Oil	4
Mineral	1
Vitamin*	1
Chemical Composition (% dry matter basis)	
Dry Matter	83.90
Crude Protein	40.10
Crude Fat	6.71
Crude Ash	6.52
Crude Fiber	1.82
Nitrogen-Free Extract**	28.75

* 2200 IU of vitamin A, 85 mg of B1-Thiamin, 77 mg of B2-Riboflavin, 350 mg of B3-Niacin, 88 mg of B6-Pyridoxine, 0.2 mg of B12-Cobalamin, 200 mg of D, 20 mg of K)

**NFE (%) = 100 - (% moisture + % crude protein + % crude fat + % ash + % crude fiber).

To delay the spoiling of vitamins used in the trial, they were packed properly for protection from sunlight and heat (in black vacuum bags) and stored in a refrigerator.

All vitamins used in the trial, particularly pure Rovimix Vitamin C (L-ascorbic acid), and Vitamin E (α -tocopherol acetate), were added to the feed according to loss rates determined by the manufacturer (DSM Nutritional Products). Vitamins were stored at ± 4 °C in a dry, dark place until use.

Calculations and statistical analysis: The following variables were calculated according to Salem & Abdel-Ghany (2018) as follows:

Weight Gain (g) = Final weight (g) – Initial weight (g)

Specific growth rate (SGR, % day^{-1}) = $\frac{\ln W_2 - \ln W_1}{\text{Number of experiment days}} \times 100$

W2: Final weight (g)

W1: Initial weight (g)

Feed conversion ratio (FCR) = $\frac{\text{Total dry feed given (g)}}{\text{Total weight gain (g)}}$

Survival rate (SR, %) = $\frac{\text{Final number of fish}}{\text{Initial number of fish}} \times 100$

Statistical analyses were performed using “Minitab Release 10 for Windows” software at a significance level of 0.05. All data on growth, FCR and survival are expressed as mean \pm standard error (SE). Data from different experimental groups for each sampling period were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) to test for effects of dietary treatments. Significant means were compared with Tukey test.

Ethical note: This research that produced from doctorate thesis was approved by the Ethics Committee of Ondokuz Mayıs University with Reference No. 2007/12. All the procedures applied in this study considered the importance of preventing, or at least minimizing, any kind of animal discomfort or suffering.

RESULTS AND DISCUSSION

Mean water temperature, pH, dissolved oxygen level and NH_4 content of water at the beginning of the experiments were 24.00 ± 0.01 °C, 6.81 ± 0.00 , 8.81 ± 0.00 mg/l and 0.4 ± 0.01 mg/l, respectively. When the water parameters of each group were analyzed at the beginning and the end of trials, the differences were statistically insignificant ($P > 0.05$).

The highest weight gain among the trial groups was observed in group 16, followed by groups 15 and 13, respectively. The lowest weight gain was observed in groups 1 and 6, and the differences between these groups and others were statistically significant ($P < 0.05$) (Table 2).

Table 2. Growth parameters, feed conversion ratio (FCR) and survival rate of guppy (*Poecilia reticulata*) fed different amounts of vitamin for 90 days (mean± standard error).

Experimental Groups*	Final Weight (g)	Weight gain (g)	Specific Growth Rate (%)	Feed Conversion Ratio	Survival Rate (%)
1	0.079±0.03	0.069±0.07 ^a	2.19±0.01 ^a	2.52±0.05 ^h	84.44±0.70 ^a
2	0.107±0.07	0.097±0.09 ^c	2.53±0.01 ^c	1.56±0.01 ^f	91.10±0.70 ^b
3	0.106±0.07	0.095±0.08 ^c	2.51±0.00 ^c	1.96±0.11 ^g	93.33±1.21 ^c
4	0.110±0.01	0.098±0.02 ^c	2.55±0.01 ^c	1.37±0.00 ^e	100.0±0.00 ^d
5	0.110±0.01	0.098±0.02 ^c	2.55±0.01 ^c	1.24±0.04 ^{cd}	91.10±0.70 ^b
6	0.100±0.01	0.089±0.02 ^b	2.45±0.00 ^b	1.24±0.02 ^{cd}	93.33±0.00 ^c
7	0.140±0.12	0.103±0.10 ^{cd}	2.59±0.03 ^{cd}	1.38±0.04 ^e	100.0±0.00 ^d
8	0.124±0.08	0.112±0.04 ^d	2.68±0.01 ^d	1.31±0.08 ^e	93.33±1.21 ^c
9	0.129±0.00	0.117±0.00 ^d	2.73±0.00 ^e	1.22±0.02 ^c	100.0±0.00 ^d
10	0.130±0.01	0.119±0.11 ^{de}	2.74±0.00 ^e	1.27±0.00 ^d	100.0±0.00 ^d
11	0.146±0.02	0.135±0.06 ^f	2.86±0.03 ^f	1.21±0.04 ^c	93.33±0.00 ^c
12	0.163±0.01	0.152±0.02 ^g	2.99±0.01 ^g	1.05±0.04 ^{bc}	100.0±0.00 ^d
13	0.185±0.01	0.174±0.03 ^h	3.13±0.00 ^h	0.73±0.02 ^{ab}	100.0±0.00 ^d
14	0.167±0.01	0.156±0.00 ^g	3.02±0.01 ^g	0.68±0.01 ^{ab}	100.0±0.00 ^d
15	0.202±0.01	0.191±0.00 ⁱ	3.23±0.01 ^h	0.61±0.01 ^a	100.0±0.00 ^d
16	0.256±0.01	0.245±0.00 ⁱ	3.49±0.01 ⁱ	0.47±0.01 ^a	100.0±0.00 ^d

Different letters in the same column indicate significant differences between the experimental groups (P<0.05).

When specific growth rates of the fish were evaluated, it was observed that guppy fry in group 16, which were fed with 300 mg vitamin E/kg+1000 mg vitamin C/kg supplemented feed, had the highest rate (3.50±0.01) whereas, guppy fry in group 1, which were fed with vitamins C and E deficient control feed, showed the lowest rate (2.19±0.01). The difference between each group was found to be statistically significant (P<0.05).

Among the experimental groups, the lowest feed conversion ratio was observed in group 16, and the highest was in group 1 (the control). Regarding the feed conversion ratio, differences between group 16, which had the lowest rate, and the remaining groups were observed to be statistically significant (P<0.05).

When the survival rate of each group was examined, it was found that mortalities were only in groups 1, 2, 3, 5, 6, 8 and 11. There were no mortalities in the other 9 groups. Differences between the groups, in which mortalities occurred, and the remaining groups, were found to be statistically significant (P<0.05).

At the end of the experiment, it was observed that the fish in groups 12, 13, 14, 15, and 16 reached sexual maturity. Furthermore, in group 16, a total of 18 fish fry were collected from aquaria 16-1 and 16-2 on the 87th day. When sexually mature fish in groups 12, 13, 14, 15, and 16 were counted separately as female (F) and male (M), the numbers were as follows: 26F-19M, 26F-19M, 27F-18M, 27F-18M, and 30F-15M, respectively.

In the study conducted by NRC (1993), it was reported that the required level of vitamin C and vitamin E for fish to grow, reproduce and sustain vital functions varies between 40-500 mg vitamin C/kg, and between 50-250 mg vitamin E/kg. Levels of vitamins C and E added to the feed in the present study were parallel to the levels reported by NRC (1993).

Vitamin C and E are very essentials for most fish species like as ornamental fish. It has also been recognized that these vitamins are among the most important nutrients that affect various aspects of fish including growth and

survival (Khara et al., 2016; Liu et al., 2016; Liu et al., 2018). When each group was statistically analyzed, the fish in group 16 had the highest mean individual weight gain, total weight gain, daily weight gain, specific growth rate, and the lowest feed conversion ratio. When each group was analyzed regarding growth parameters, there were statistically significant differences between fish in group 16 and the others (P<0.05). Moreover, the lowest values belonged to fish in group 1 (the control group), which were fed with vitamins C and E deficient feed. Groups that were fed with feed containing merely vitamin C, or E additives were statistically similar (P>0.05).

As ascorbic acid reserves are used out during the larval development of fish (Dabrowski et al., 1988, 1989; Dabrowski, 1990), it has been suggested that vitamin C requirements of fish during the early stages of their lives are might be higher than fingerling and maturity stages (NRC, 1993). Since fish are unable to synthesize vitamin C (ascorbic acid), they depend on dietary intake. The required level of vitamin C intake varies according to species, age, and physiological state (Hoşsu et al., 2003). In the study conducted by Shiau & Jan, (1992) it was reported that the ascorbic acid requirement of catfish, trout, and carp decreases as their size increases. Concordantly, considering the mean initial weight of the fish and the fact that they are fry, weight gain at the end of the trial increased depending on the level of vitamin addition. In the studies conducted by Dabrowski et al., (1988, 1989) it was suggested that the vitamin C requirement of fish during the early stages of life might be greater than fingerling and maturity stages since ascorbic acid reserves are depleted during the larval development.

Chen et al., (2004) conducted a study in which they fed *Notemigonus crysoleucas* with α -tocopherol (0 and 38 mg of α -tocopherol/kg feed) and ascorbic acid (23, 43, 98, and 222 mg ascorbic acid/kg feed) supplemented feed. In the study, they evaluated the growth, survival, immunity, and stress response of the fish (with 0.75 g initial weight) to determine vitamin E deficiency. At the

end of 14 weeks, they reported that α -tocopherol supplementation did not affect the weight gain, but increased the survival rate of the fish. In the present study, the lowest survival rate was observed in Group I, 100% survival rate was observed in group 4 (maximum vitamin E level), group 7 (maximum vitamin C level), groups 9, 10, 12, 13, 14, 15, and 16 (increasing levels of vitamins C and E combined).

In the study conducted by Gouillou-Coustans et al., (1998) on *Cyprinus carpio* larvae, it was reported that although the vitamin requirement of fish increased gradually as they grew from the larval stage, it was greater during the first stage of growth and reproduction, compared to other stages of life. Similarly, we observed that the vitamin requirement of guppy fry continued to increase as they grew, as suggested by Gouillou-Coustans et al., (1998).

Blom & Dabrowski, (2000) added 0, 30, 120, 360, 720, and 1440 mg vitamin C/kg to the feed, to determine the vitamin C requirement of angelfish. At the end of the experiment, they determined the weight gain and the feed conversion ratio values of the fish (with 1.12 ± 0.08 g initial mean weight). After 14 weeks, they reported that the differences between the groups fed with 0, 30, and 120 mg vitamin C/kg and the groups fed with 360, 720, and 1440 mg vitamin C/kg, were statistically significant ($P < 0.05$). However, the differences among the latter groups were statistically insignificant ($P > 0.05$). In the present study conducted on fry, group 16 showed the highest weight gain. The experimental feed received by this group contained 1000 mg vitamin C/kg, with proximity to 1440 mg vitamin C/kg, as specified in the literature.

Galaz et al., (2010) investigated the effects of vitamin E supplementation in various levels (0, 25, 50, 75, 100, and 500 mg/kg) on the growth performance of *Oplegnathus fasciatus* (barred knifejaw) juveniles and its efficacy against *Vibrio anguillarum*. After 12 weeks, they analyzed the weight gain, feed conversion ratio, and survival rate values. At the end of the experiment, they reported a 100% survival rate in all experimental groups. They also stated that the highest weight gain (60.2 ± 0.80) and the lowest feed conversion ratio values (1.39 ± 0.01) were observed in the group fed with 25 mg vitamin E/kg supplementation. In our study, vitamin E was added into the feed in various levels (0, 75, 150, and 300 mg/kg). We observed that as vitamin E level increased, the weight gain values of fish also increased, and the feed conversion ratio decreased. This result differs from the study of Galaz et al., (2010).

Mehrad & Sudagar (2010a, b) have done two studies on the effect of vitamin in guppies. In the first one (2010a), they investigated the effect of Vitamin C on growth, survival, reproduction and sex ratios in guppy, and

in the other study (2010b), the effects of Vitamin E on growth and reproduction in guppy fish. In two studies, the body weight increase (BWI), percent body weight increase (PBWI), specific growth rate (SGR) and daily growth rate (DGR) of guppies were increased significantly with increasing the levels of vitamin C and vitamin E ($P < 0.05$).

In conclusion, in the light of the findings of this study, it was determined that as the levels of vitamins C and E supplementation increased, the growth and survival rates of guppy fry also increased.

REFERENCES

- Akyurt, İ. (2004).** *Balık besleme*. Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitapları, No:3, Hatay, Türkiye, 226 p.
- Arıman, H. & Aras, N.M. (2002).** Hormon veya Hormon Etkisine Sahip Yem Katkı Maddelerinin Balık Yetiştiriciliğindeki Kullanımı. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **19**(3-4), 545-553.
- Blom, J.H. & Dabrowski, K. (2000).** Vitamin C requirements of angelfish *Pterophyllum scalare*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **31**, 115-118.
- Chen, R., Lochmann, R., Goodwin, A., Praveen, K., Dabrowski, K. & Lee, K.J. (2004).** Effects of vitamin C and vitamin E on alternative complement activity, hematology, tissue composition, vitamin concentrations and response to heat stress in juvenile golden shiner (*Notemigonus crysoleucas*). *Aquaculture*, **242**, 553-569.
- Dabrowski, K., Hinterleitner, S., Sturmbauer, C., El-Fiky, N. & Wieser, W. (1988).** Do carp larvae require vitamin C? *Aquaculture*, **72**, 295-306.
- Dabrowski, K., Segner, H., Dallinger, R., Hinterleitner, S., Sturmbauer, C. & Wieser, W. (1989).** Rearing of roach larvae; the vitamin C minerals interrelationship and nutrition-related histology of the liver and intestine. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **62**, 188-202.
- Dabrowski, K. (1990).** Ascorbic acid status in the early life of whitefish (*Coregonus lavaretus* L.). *Aquaculture*, **84**, 61-70.
- El-Gamal, A.H.E., El-Greisy, Z.A. & El-Ebiary, E. (2007).** Synergistic effects of vitamins C, E and selenium on reproductive performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Sciences Research*, **3**(7), 564-573.
- Emata, A.C., Borlongan, I.G. & Damaso, J.P. (2000).** Dietary vitamin C and E supplementation and reproduction of milkfish *Chanos chanos* Forsskal. *Aquaculture Research*, **31**, 557-564.
- Frischknecht, R., Wahli, T. & Meier, W. (1994).** Comparison of pathological change due to deficiency of vitamin C, vitamin E and combinations of vitamin C and E in rainbow trout, *O. mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, **17**, 31-45.

- Galaz, G.B., Kim, S. & Lee, K. (2010).** Effects of different dietary vitamin E levels on growth performance, non-specific immune responses, and disease resistance against *Vibrio anguillarum* in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, **23**(7), 916-923.
- Gouillou-Coustans, M.F., Bergot, P. & Kaushik, S.J. (1998).** Dietary ascorbic acid needs of common carp (*Cyprinus carpio*) larvae. *Aquaculture*, **161**, 453-461.
- Hamre, K., Waagbo, R., Berge, R.K. & Lie, O. (1997).** Vitamins C and E interact in juvenile atlantic salmon (*Salmo salar*, L). *Free Radical Biology&Medicine*, **22**(1-2), 137-149.
- Harpaz, S., Slosman, T. & Segev, R. (2005).** Effect of feeding guppy fish fry (*Poecilia reticulata*) diets in the form of powder versus flakes. *Aquaculture Research*, **36**, 996-1000.
- Hoşsu, B., Korkut, A.Y. & Firat, A. (2003).** *Balık besleme ve yem teknolojisi I (Balık besleme fizyolojisi ve biyokimyası)*. Ege Üniv. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, Ders Kitabı Dizini, No:19, İzmir, Türkiye, 276p.
- Hunt, A.Ö., Özkan, F. & Altun, T. (2004).** Balıkların üreme performansı üzerine anaç besinlerinin etkisi. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, Year: **2**(3), 525-531.
- Izquierdo, M.S., Fernandez-Palacios, H. & Tacon, A.G.J. (2001).** Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, **197**, 25-42.
- James, R. & Vasudhevan, I. (2011).** Effect of dietary vitamin C on growth, reproduction and leucocytes count in the gold fish, *Carassius auratus* (Linnaeus, 1758). *Indian Journal of Fisheries*, **58**, 65-71.
- Khara, H., Sayyadborani, M. & SayyadBorani, M. (2016).** Effects of α -Tocopherol (vitamin E) and Ascorbic Acid (Vitamin C) and Their Combination on Growth, Survival and Some Haematological and Immunological Parameters of Caspian Brown Trout, *Salmo trutta caspius* juveniles. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **16**, 385-393.
- Lawal, M.O., Edokpayi, C.A. & Osibona, A.O. (2012).** Food and feeding habits of the Guppy, *Poecilia reticulata*, from drainage canal systems in Lagos, Southwestern Nigeria. *West African Journal of Applied Ecology*, **20**(2), 1-9.
- Lee, K. & Dabrowski, K. (2004).** Long-term effects and interactions of dietary vitamins C and E on growth and reproduction of yellow perch, *Perca flavescens*. *Aquaculture*, **230**, 377-389.
- Lim, L.C., Dhert, P., Chew, W.Y., Dermaux, V., Nelis, H. & Sorgeloos, P. (2002).** Enhancement of stress resistance of the guppy *Poecilia reticulata* through feeding with vitamin C supplement. *Journal of the World Aquaculture Society*, **33**(1), 32-40.
- Liu, B., Wan, J., Ge, X., Xie, J., Zhou, Q., Miao, L., Ren, M. & Pan, L. (2016).** Effects of Dietary Vitamin C on the Physiological Responses and Disease Resistance to Ph Stress and *Aeromonas hydrophila* Infection of *Megalobrama amblycephala*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **16**, 421-433.
- Liu, H., Wen, B., Chen, Z., Gao, J., Liu, Y., Zhang, Y., Wang, Z. & Peng, Y. (2020).** Effects of dietary vitamin C and vitamin E on the growth, antioxidant defence and digestive enzyme activities of juvenile discus fish (*Symphysodon haraldi*). *Aquaculture Nutrition*, **25**, 176-183. DOI: 10.1111/anu.12841.
- Mehrad, B. & Sudagar, M. (2010a).** The effect of vitamin C on growth factors, survival, reproduction and sex ratio in guppy (*Poecilia reticulata*). *AACL Bioflux*, **3**(3), 163-170.
- Mehrad, B. & Sudagar, M. (2010a).** The effect of vitamin C on growth factors, survival, reproduction and sex ratio in guppy (*Poecilia reticulata*). *AACL Bioflux*, **3**(3), 163-170.
- Mehrad, B. & Sudagar, M. (2010b).** Dietary vitamin E requirement, fish performance and reproduction of guppy (*Poecilia reticulata*). *AACL Bioflux*, **3**(3), 239-246.
- NRC (National Research Council) (1993).** *Nutrient Requirements of Fish*. Washington, DC: National Academic Press, 114pp.
- Salem, M. & Abdel-Ghany, H.M. (2018).** Effects of dietary orange peel on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquaculture Studies*, **18**(2), 127-134.
- Sales, J. & Janssens, G.P.J. (2003).** Nutrient requirements of ornamental fish. *Aquatic Living Resources*, **16**, 533-540.
- Santiago, C.B. & Gonzal, A.C. (2000).** Effect of prepared diet and vitamins A, E and C supplementation on the reproductive performance of cage-reared bighead carp *Aristivhthys nobilis* (Richardson). *Journal of Applied Ichthyology*, **16**, 8-13.
- Sealey, W.M. & III Gatlin, D.M. (2002).** Dietary vitamin C and vitamin E interact to influence growth and tissue composition of juvenile hybrid striped bass (*Morone chrysops*♀ X *M. saxatilis*♂) but have limited effects on immune response. *The Journal of Nutrition*, **132**, 748-755.
- Shiau, S.Y. & Jan, F.L. (1992).** Dietary ascorbic acid requirement of juvenile tilapia *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**(4), 671-675.
- Shiau, S. & Hsu, C. 2002.** Vitamin E sparing effect by dietary vitamin C in juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* X *O. aureus*. *Aquaculture*, **210**, 335-342.
- Wang, X., Kim, K., Bai, S.C., Huh, M. & Cho, B. (2003).** Effects of the different levels of dietary vitamin C on growth and tissue ascorbic acid changes in parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Aquaculture*, **215**, 203-211.



Organik Bileşik Olarak Altın Çilek (*Physalis peruviana*) Kabuk ve Meyve Özütü ile Çiçek Şekilli Hibrit Nanoyapıların Gıda Patojenleri Üzerine Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi ve Bu Nanoyapıların Morfolojik Karşılaştırılması

Ayşe DEMİRBAŞ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su ürünleri Fakültesi, Rize, 53100, Türkiye

Geliş Tarihi: 08.03.2021

Kabul Tarihi: 08.04.2021

Basım Tarihi: 30.06.2021

Atf yapmak için: Demirbaş, A. (2021). Organik bileşik olarak Altın çilek (*Physalis peruviana*) kabuk ve meyve özütü ile çiçek şekilli hibrit nanoyapıların gıda patojenleri üzerine antibakteriyel etkisinin incelenmesi ve bu nanoyapıların morfolojik karşılaştırılması. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 157-161.

How to cite: Demirbaş, A. (2021). Comparison study of morphologic structures of synthesized hybrid nanoflowers using Goldenberry / Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) and their antimicrobial activity on food pathogens. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 157-161.

*[id](https://orcid.org/0000-0002-7629-3263): <https://orcid.org/0000-0002-7629-3263>

*Sorumlu yazarın:

Ayşe DEMİRBAŞ

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Rize, 53100, Türkiye

✉: ayse.demirbas@erdogan.edu.tr

Öz: Bu çalışmada, altın çilek meyve ekstresi-bakır (II) (Cu^{2+}) iyonları nanoflower (hNFs) (çiçek şekilli hibrit nanoyapılar) ve altın çilek kabuk ekstresi-bakır (II) (Cu^{2+}) iyonları nanoflower (hNFs) sentezlendi. Ve bu sentezlerin gıda kaynaklı bakteriyel patojenler (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas spp.* ve *Basillus cereus*) üzerine antimikrobiyal etkisi ayrıca sentezlenen çiçek şekilli hibrit nanoyapıların morfolojileri incelendi. Altın çilek kabuğu ekstresinin (AÇKE) ve altın çilek meyve ekstresinin (AÇME) ana bileşikleri organik bileşenler olarak ve bakır (II) (Cu^{2+}) iyonları inorganik bileşenler olarak sentezlendi. AÇME- Cu^{2+} nanoflowerları, AÇKE- Cu^{2+} nanoflower'lara kıyasla oldukça kompakt, gözenekli ve üniformdur. NF'lerin yapılarını gözlemlemek için Fourier Dönüşümü Kızılötesi spektrometresi (FT-IR), Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-ışını (EDX) spektroskopisi kullanıldı. FT-IR'nin bulguları, NF'deki Cu-O ve Cu-N bağlarını gösterir ve bu NF'lerin gelişiminin bir göstergesi olabilir. Bununla birlikte, AÇME-hNF'lerin ve AÇKE-hNF'lerin gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal etkileri doğrulandı. HNF'lerin antimikrobiyal etkilerinin bitki özlemlerindeki negative veya pozitif yüklü moleküller ile bağıntılı olabileceği bunda NF'ler arasındaki reaksiyonu artırabileceği söz konusu olabilir.

Anahtar kelimeler: Altın çilek, antimikrobiyal, gıda patojenleri, kabuk, meyve suyu, nanoyapılar.

Comparison Study of Morphologic Structures of Synthesized Hybrid Nanoflowers Using Goldenberry / Cape gooseberry (*Physalis peruviana*) and Their Antimicrobial Activity on Food Pathogens

Abstract: In this work, we synthesized goldenberry peel extract-copper (II) (Cu^{2+}) ions nanoflower (NFs) and goldenberry fruit extract-copper (II) (Cu^{2+}) ions nanoflower (NFs) examine their antimicrobial properties on the food pathogen (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas spp.* and *Basillus cereus*). The main compounds of the goldenberry peel extract (GBPE) and the goldenberry fruit extract (GBFE) were organic components, and the copper (II) (Cu^{2+}) ions were inorganic components. GBFE- Cu^{2+} nanoflowers are quite compact, porous, and uniform as compared to GBPE- Cu^{2+} nanoflowers. Fourier Transform Infrared spectrometry (FT-IR), Scanning Electron Microscopy (SEM), and Energy-Dispersive X-ray (EDX) spectroscopy were used to observe the structures of the NFs. The findings of FT-IR show Cu-O and Cu-N bonds in NFs, which may be an indicator of the development of NFs. Although the antimicrobial actions of GBPE-hNFs and GBFE-hNFs against food pathogens have been confirmed. The prospective pathways of the antimicrobial impacts of hNFs can be negatively/positively charged molecules in plant extracts, which could enhance the reaction between NFs.

*Corresponding author's:

Ayşe DEMİRBAŞ

Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, Rize, 53100, Turkey

✉: ayse.demirbas@erdogan.edu.tr

Keywords: Antimicrobial, bark, food pathogens, goldenberry, juice, nanostructures.

GİRİŞ

Son zamanlarda, “nanoflower (hNF'ler)” olarak adlandırılan organik-inorganik çiçek şeklindeki hibrit nanoyapılar, ilk olarak Zare ve arkadaşları tarafından keşfedilip inorganik bir kısım olarak Cu^{2+} ve organik bileşikler olarak protein / enzim kullanarak ve katalitik aktivite ve stabiliteyi desteklediği tanımlanmıştır (Ge vd., 2012).

NF'ler, enzim saflaştırma süreçleri, ilaç dağıtımı, aşı çalışmaları ve çevre koruma için olası uygulamalar gibi endüstriyel alanlar için de önemlidir (Lee vd., 2015; Shaalan vd., 2016; Shende vd., 2018; Dar vd., 2020). Altın kaynak ve diğerleri (2016), laktoperoksidazdan türetilen hNF'lerin serbest laktoperoksidazdan daha verimli katalitik aktivite gösterdiğini ve reaksiyon bitmeden önce hNF'lerin yeniden kullanılabilirliğini gözlemiştir. NF'nin keşfinden bu yana yaban turpu peroksidaz (Osoy vd., 2015), peroksidaz (Altın kaynak vd., 2016 gibi çoklu enzimler yeni NF'lerin üretimi için organik bileşenleri oluşturmuştur. Bunların yanı sıra bitki özütleri de çok kullanılan organik bileşikler arasındadır (Wu vd., 2016; Baldemir vd., 2017; Shende vd., 2018; Yılmaz vd., 2016; Kong vd., 2019; Dadi vd., 2020; Koca vd., 2020).

Bu çalışmada ilk kez AÇKE ve AÇME (organik) ve Cu^{2+} (inorganik) bileşenlerinin etkileşimi ile Cu-hNF'lerin biyolojik sentezi yapılmış ve antimikrobiyal özellikleri gıda kaynaklı bakteriyel patojenlere (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas spp.* ve *Bacillus cereus*) karşı test edilmiştir. Literatürde varılan araştırma sonuçlarına göre gıda patojenleri dünya genelinde insanlarda zehirlenmelere, kalıcı ve geri dönüşümü olmayan hasarlara ve hatta ölümlere sebebiyet vermektedir. Bu nedenle biz de bu çalışmamızda gıda patojenlerini ele alarak antimikrobiyal etkisini araştırmayı hedefledik. Elde edilen Cu-hNF'lerin karakterizasyonu ise enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi, Fourier dönüşümü kızılötesi spektrometresi (FT-IR) ve elektron mikroskobu (SEM) tarama görüntüleri ile analiz edilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Hibrit Nanoflower'in Hazırlanması: Hibrit nanoflower (hNF) sentezi, Somturk (2015) sürecine önemli ölçüde güncellenen bir yaklaşım kullanılarak gerçekleştirildi. İkinci olarak, ultra saf su içinde 120 mM $CuSO_4$ stok çözeltisi hazırlandı. Ardından, 0.2 mL sulu bitki özütü (kabukları ve meyve) içeren 9 mL 10 mM PBS çözeltisine (pH 7.4) 60 uL $CuSO_4$ stok çözeltisi ilave edildi. Bu nihai karışım, kuvvetli bir şekilde çalkalandı ve sonra oda sıcaklığında 72 saat (RT = 20 °C) inkübasyon için dokunulmadan bırakıldı. İnkübasyondan sonra, HNF büyüme işlemi tamamlandı ve karışım, mavi renkli bir çökelti oluşturmak için santrifüjlendi. Elde edilen çökelti

en az 3 kez deiyonize su ile yıkandı ve reaksiyona girmemiş materyalleri uzaklaştırmak için 12000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi. hNF çökeltisi karakterizasyon işlemi için oda sıcaklığında kapalı bir alanda kurutuldu.

hNF'lerin karakterizasyonu: Taramalı elektron mikroskobu (SEM), ZEISS EVO LS10 cihazında (Oberkochen, Almanya) nanoflower görüntüleri karakterize etmek için kullanılmıştır. Enerji dağıtıcı X-ışını (EDX-ZEISS EVO LS10) cihazı, nanoflowerların elemental analiz etmek için kullanılmıştır. Nanoflower kristal yapısı, X-ışını kırınım analizi (XRD-BRUKER AXS D8) (Karlsruhe, Almanya) ile tanımlanmıştır. Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisinin (FT-IR) nanoflower spektrumlarının, FTIR Spektrometresi (Perkin Elmer 400 Spotlight 400 Görüntüleme Sistemi, Waltham, ABD) çalıştırılarak kimyasal bileşimini test ettiği gözlenmiştir.

Antibakteriyel aktivite: Daha önce belirtildiği gibi, hNF'lerin antibakteriyel işlevini değerlendirmek için agar disk difüzyon yaklaşımı kullanılmıştır (Koca vd., 2020; Baldemir vd., 2017). Kısaca, 0.5 ug/mL hNF'ler, gıda kaynaklı bakteriyel patojenlerin gelişimini inhibe etmek için kullanılır. 1.0×10^8 CFU/mL konsantrasyondaki bakteri kolonileri, aynı hNFs konsantrasyonları ile belirlenmiştir. Kültür plakalarının 37 °C'de 24 saat inkübe edilmesinden sonra, bakteriyel büyümenin inhibisyon alanı milimetre olarak ölçüldü (Shrivastava vd., 2007). Her bakteri suşu için üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

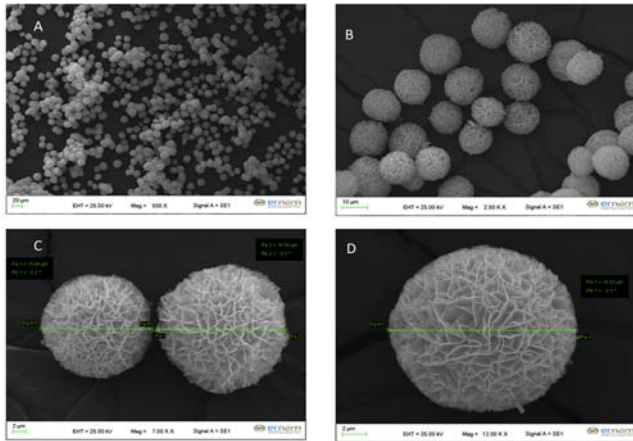
hNF'lerin sentezi ve karakterizasyonu: Bu çalışmada, AÇKE ve AÇME ilk olarak çiçek benzeri yapılar oluşturmak için organik bir bileşen olarak kullanılmıştır. Literatürde bulunan çeşitli çalışmalar ile sunulan çalışmanın organik-inorganik hibrit nanoyapıların oluşum mekanizması da yapılan analiz sonuçlarıyla benzerlik gösterdiği kanıtlanmıştır. (Koca vd. 2020; Ge vd. 2012; Altın kaynak vd., 2016b; Ariza-Avidad vd., 2016; Thawari vd., 2016; Sun vd., 2014). Altın çilek kabuğu ve meyve (Şekil. 1) ekstresinin Cu-hNF biyosentezi bu çalışmada gerçekleştirilmiş ve antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir. SEM tarafından yapılan gözlemler, Cu-hNF'lerin çiçeğe benzer yapılar olduğu doğrulanmıştır (Şekil 2A, B, C, D, ve Şekil 3A, B, C, D). Petal benzeri yapılar, aşağıda görüldüğü gibi çiçek yapılarının gelişiminde rol oynamıştır.

Ayrıca aynı bitkilerin Cu-hNFs kabuğu ve meyve suyu bazlı Cu-hNF'ler ile dış ve iç bileşenlerinin etkisi incelenmiş ve AKME ekstraktları kullanılarak Cu-hNF'lerin mükemmel şekilde oluştuğu görülmüştür (Şekil 2). Çiçek şeklindeki AÇME-hNF'ler, AKME-hNF'lere

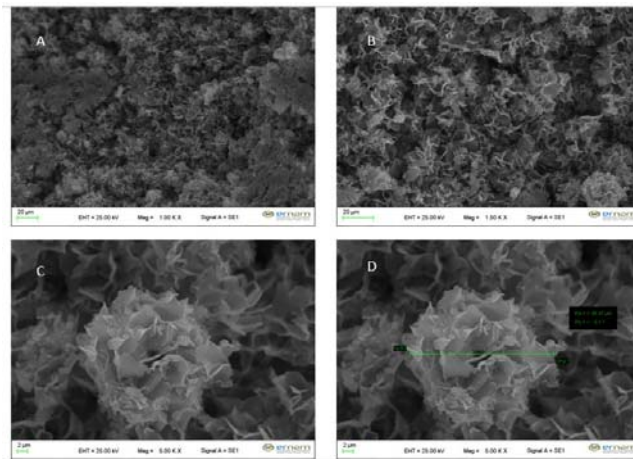
göre daha güçlü sıkı petaller oluşturdukları gözlemlenmiştir (Şekil 3A, B, C, D) AÇKE kullanılarak sentezlenen Cu-hNF'lerde çiçek şeklindeki yapıların önemli ölçüde dağıldığı da gözlenmiştir (Şekil 3A, B, C, D).



Şekil 1. Altın çilek meyvesi (A), Altın çilek kabuğu (B).
Figure 1. Goldenberry fruit (A), peel of goldenberry (B).



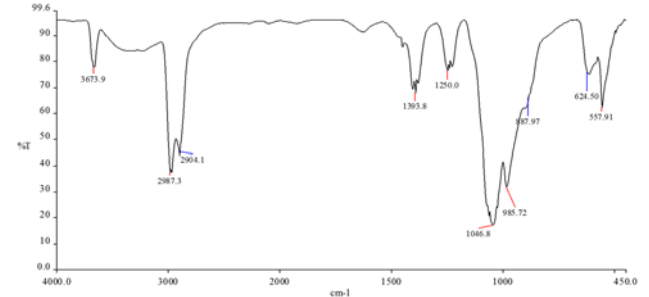
Şekil 2. AÇME-hNFs 'ların SEM görüntüleri.
Figure 2. SEM images of GBFE-hNFs.



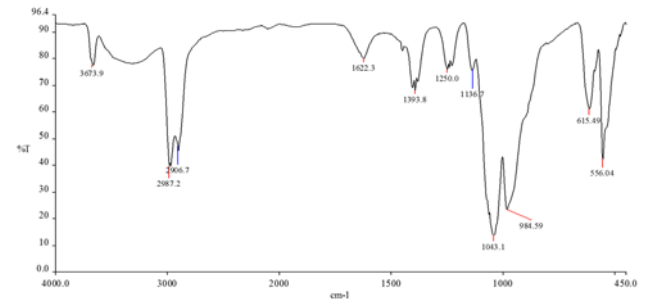
Şekil 3. AÇKE-hNFs 'ların SEM görüntüleri.
Figure 3. SEM Images of GBPE-hNFs.

FT-IR (Şekil 4. ve 5) ve EDX (Şekil 6), incelemesi Cu-hNF'lerin kurucu yapılarını değerlendirmek için kullanılır. Cu-hNF sentezinde yer alan fonksiyonel grupların varlığını belirlemek için, NF'ler FT-IR spektroskopisi (400 - 4000 cm^{-1} arasında) ile karakterize

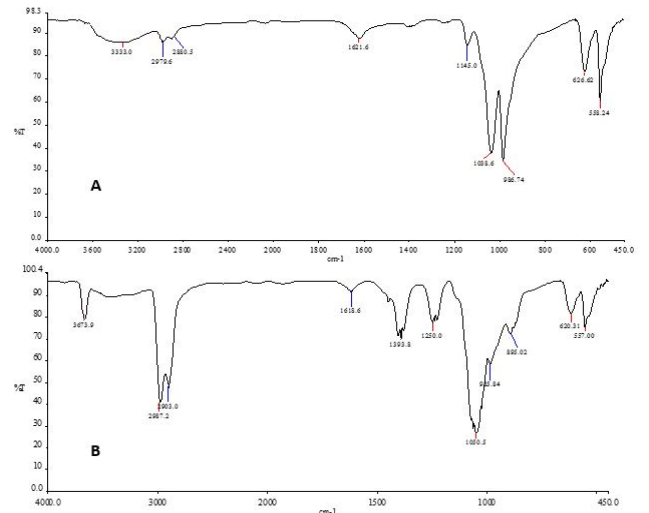
edilir. AÇME ve AÇKE ile sentezlenen Cu-hNF'lerin antimikrobiyal etkileri, gıda patojenlerine karşı kapsamlı bir şekilde kontrol edilmiştir. Cu-hNF'lerin DISC içeriği, ölçülen tüm mikroorganizmalar için 10 lg/mL'lik bir konsantrasyonda tahmin edilmiştir (Şekil. 7).



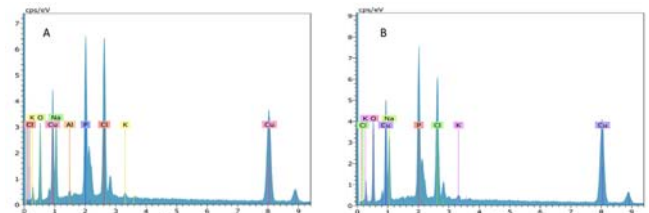
Şekil 4. FT-IR AÇME-hNFs ların sonuçları.
Figure 4. FT-IR results of GBFE-hNFs.



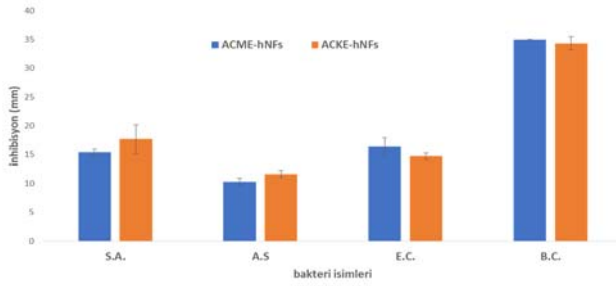
Şekil 5. FT-IR AÇKE-hNFs ların sonuçları.
Figure 5. FT-IR results of GBPE-hNFs.



Şekil 6. FT-IR AÇKE (A) ve AÇME (B) lerin sonuçları
Figure 6. FT-IR results of GBPE (A) and GBFE (B)



Şekil 7. AÇKE-hNFs (A) ve AÇME-hNFs (B) lerin EDX sonuçları.
Figure 7. EDX results of GBFE-hNFs (A) and GBPE-hNFs (B).



Şekil 8. AÇME-hNFs, AÇKE-hNFs lerin antimikrobiyel etkisi (inhibasyon (mm)) değerleri (S.A.: *Staphylococcus aureus*, E.C.: *Escherichia coli*, A.S.: *Aeromonas spp.* ve B.C.: *Basillus cereus*)
Figure 8. Antimicrobial effects of GBFE-hNFs and GBPE-hNFs (Inhibition value (mm)) (S.A.: *Staphylococcus aureus*, E.C.: *Escherichia coli*, A.S.: *Aeromonas spp.* ve B.C.: *Basillus cereus*)

TARTIŞMA VE SONUÇ

Koca ve ekibinin yapmış olduğu çalışmada da benzer şekilde önceki deneylerde Cu-hNFs sentezinde organik ve inorganik bileşiklerin konsantrasyonunun veya çeşitliliğinin, sentez sırasındaki pH seviyesinin ve reaksiyon süresinin önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Koca vd., 2020). Baldemir vd. (2017), Cu iyonları ve amin gruplarının fosfat tamponlama (nükleasyon) ile bağlanmasını ilk adım olarak tanımlayıp; Cu iyon bitki ekstraktındaki amin gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan Cu-hNF'lerin oluşum mekanizmasını belirlediğini ortaya koymuştur. Daha sonra ki süreçte, Cu-proteininin gelişiminin (büyüme) taçyapraklar tarafından üretildiği ikinci adım ve son adım olarak da anizotropik büyümenin ve çiçek oluşumunun tamamlandığı (tamamlanma) üçüncü aşama ile sonuçlandığını belirtmiştir. HNF'lerin oluşum mekanizmasına göre amin gruplarının metale bağlanma kabiliyeti ortam pH'ına bağlı olduğu rapor edilmiştir (Nhung vd., 2013).

SEM fotoğrafları, küçük boyut aralığında küresel morfolojiler olduğunu göstermektedir. AÇME-Cu-NF'lerin çapı da SEM görüntüleriyle 15-18 µm'de ölçüldü. AÇKE ekstresi ile sentezlenen Cu-NF'lerin ortalaması ise 20 µm olarak ölçülmüştür ve önceki araştırmaları doğrulamaktadır (Koca vd., 2020; Baldemir vd., 2017). FT-IR analizi ile belirlenen AÇME-hNF'lerin karakteristik kırınım noktaları 3673.9 cm⁻¹, 2987.3 -2904.1 cm⁻¹, 1393.8 cm⁻¹, 1250.0 cm⁻¹, 1046.8 cm⁻¹, sırasıyla (CH), amin tuzları (NH), alken (C = C), fenol (OH), alkilhalid (CF) ve alkol (CO) bant titreşimleri (Şekil 4) (Koca vd., 2020; Baldemir vd., 2017). Spektrumda gözlenen diğer AÇME-hNF kırınımları 985 cm⁻¹, 887 cm⁻¹, 624 cm⁻¹, 557 cm⁻¹ fosfat gruplarının titreşimine karşılık gelir PO₄³⁻ (Koca vd., 2020; Cho vd., 2008). FT-IR analizi ile belirlenen AÇKE-hNF'lerin karakteristik kırınım zirveleri ise 3673 cm⁻¹, 2987-2906 cm⁻¹, 1622.3 cm⁻¹, 1393.8 cm⁻¹, 1250.0 cm⁻¹, 1136.7 cm⁻¹, (CH), amini tuzlarını işaret ediyor (NH), alken (C = C), fenol (OH), alkilhalid (CF) ve alkol (CO)

bant titreşimleri sırasıyla (Şekil 5) (Koca vd., 2020; Baldemir vd., 2017). 984,59 cm⁻¹, 615.49 cm⁻¹, 556.04 cm⁻¹ spektrumunda bulunan diğer AÇKE-hNF zirveleri fosfat grubu titreşimine (PO₄³⁻) karşılık gelir (Koca vd., 2020; Cho vd., 2008). Şekil 6 da verildiği gibi sadece bitki ekstraktlarının FT-IR sonuçları verilmiştir. FT-IR çalışması, AÇME ve AÇKE'ye dayalı Cu-hNF'lerin PBS tamponunda sentezlendiği sonucuna varmıştır. Cu-NF'lerin kimyasal bileşimi bir EDX analizi kullanılarak hesaplanmıştır. EDX spektrumunun hNF iskeletinde Cu varlığı doğrulanmıştır (Şekil 7). AÇME bazlı Cu-hNF'ler küresel bir yapıya sahiptir ve karakterizasyon bulgularına göre PBS tamponunda 15 µm çap başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. *Staphylococcus aureus*; için AÇME ve AÇKE bazlı hNF'lerin oluşturduğu inhibasyon bölgelerinin sırasıyla 15.66 ve 18 mm olduğu, *Escherichia coli* için; 16 mm ve 15 mm, *Aeromonas spp.* için; 10 mm ve 12 mm, *Basillus cereus* için; 35 mm ve 34 mm olarak ölçülmüştür (Şekil 8). HNF'lerdeki Cu²⁺ iyonları, Cu¹⁺ hidrojen radikallerine neden olan H₂O₂ varlığında Cu¹⁺ iyonları içerir. Bu radikallerin bakteri zarına zarar verdiği ve bakteri hücrelerini tahrip ettiği düşünülmektedir. (Baldemir vd., 2017).

Sonuç olarak; AÇME den elde edilen hNF'ler iyi dağılmış, tek tip ve küresel olarak gözlemlenmiştir. Hem AÇME-Cu²⁺ hNF'ler hem de AÇKE-Cu²⁺ hNF'ler, gıda kaynaklı bakteriyel patojenlere (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Aeromonas spp.* ve *Basillus cereus*) karşı yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bununla birlikte, hem AÇME-Cu²⁺ hNF'ler hem de AÇKE-Cu²⁺ hNF'ler gıda sektörü uygulamaları için düşünülebilir veya patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkileri nedeniyle gıda paketleme materyallerinde kullanımı araştırılıp geliştirilebilir.

TEŞEKKÜR

Yazar, tüm deneysel kurgu ve uzman yorumları ile katkıda bulunan Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesinden Doç. Dr. İsmail Öçsoy'a ve DLS ve Zeta ölçümleriyle ilgili yardımları için Erciyes Üniversitesi Nanoteknoloji Araştırma Merkezi'nden Berkay Saraymen'e teşekkür eder.

KAYNAKLAR

Altinkaynak, C., Tavlasoglu, S., Özdemir, N. & Ocsoy, I. (2016b) A new generation approach in enzyme immobilization: organic-inorganic hybrid nanoflowers with enhanced catalytic activity and stability. *Enzyme and Microbial Technology* 93-94, 105-112. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2016.06.011

- Ariza-Avidad, M., Salinas-Castillo, A. & Capitán-Vallvey, L.F. (2016)** A 3D mPAD based on a multi-enzyme organic-inorganic hybrid nanoflower reactor. *Biosensors and Bioelectronics* *77*, 51-55. DOI: [10.1016/j.bios.2015.09.012](https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.09.012)
- Baldemir, A., Kose, N.B., Ildiz, N., Ilgun, S., Yusufbeyoglu, S., Yilmaz, V. & Ocsoy, I. (2017)** Synthesis and characterization of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) extract and its major components-based nanoflowers: a new strategy to enhance antimicrobial activity. *RSC Adv* *7*, 44303. DOI: [10.1039/C7RA07618E](https://doi.org/10.1039/C7RA07618E)
- Cho, I.S., Kim, D.W., Lee, S., Kwak, C.H., Bae, S.T., Noh, J.H., Yoon, S.H., Jung, H.S., Kim, D.W. & Hong, K.S. (2008)** Synthesis of Cu₂-PO₄OH hierarchical superstructures with photocatalytic activity in visible light. *Adv. Funct. Mater.* *18*, 2154-2162. <http://pubs.kist.re.kr/handle/201004/33724>
- Dadi, S., Celik, Ç. & Ocsoy, I. (2020)** Gallic acid nanoflower immobilized membrane with peroxidase-like activity for m-cresol detection. *Scientific Reports* *10*, 16765. DOI: [10.1038/s41598-020-73778-7](https://doi.org/10.1038/s41598-020-73778-7)
- Dar, A.H., Rashid, N., Majid, I., Hussain, S. & Dar, M.A. (2020)** Nanotechnology interventions in aquaculture and seafood preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* *60*(11), 1912-1921. DOI: [10.1080/10408398.2019.1617232](https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1617232)
- Ge, J., Lei, J. & Zare, R.N. (2012)** Protein-inorganic hybrid nanoflowers, *Nature Nanotechnology*, *7*, 428-432. DOI: [10.1038/nnano.2012.80](https://doi.org/10.1038/nnano.2012.80)
- Koca, F.D., Demirezen Yilmaz, D., Ertas Onmaz, N., Yilmaz, E. & Ocsoy, I. (2020)** Green synthesis of allicin based hybrid nanoflowers with evaluation of their catalytic and antimicrobial activities. *Biotechnol Lett* DOI: [10.1007/s10529-020-02877-2](https://doi.org/10.1007/s10529-020-02877-2)
- Kong, D., Jin, R., Zhao, X., Li, H., Yan, X., Liu, F., Sun, P., Gao, Y., Liang, X., Lin, Y. & Lu, G. (2019)** Protein-inorganic hybrid nanoflower-rooted agarose hydrogel platform for point-of-care detection of acetylcholine. *ACS Appl. Mater Interfaces* *11*(12), 11857-11864. DOI: [10.1021/acsami.8b21571](https://doi.org/10.1021/acsami.8b21571)
- Lee, S.W., Cheon, S.A., Kim, M. & Park, T. J. (2015)** Organic-inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects. *J Nanobiotechnol* *13*, 54 DOI: [10.1186/s12951-015-0118-0](https://doi.org/10.1186/s12951-015-0118-0)
- Nhung, T.T., Bu, Y. & Lee, S.W. (2013)** Facile synthesis of chitosan mediated gold nanoflowers as surface-enhanced Raman scattering (SERS) substrates. *J Cryst Growth* *373*, 132-137. https://ui.adsabs.harvard.edu/link_gateway/2013JCrGr.373..132N/doi:10.1016/j.jcrysgro.2012.09.042
- Shaalán, M., Saleh, M., El-Mahdy, M. & El-Matbouli, M. (2016)** Recent progress in applications of nanoparticles in fish medicine: A review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, *12*(3), 701-710. DOI: [10.1016/j.nano.2015.11.005](https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.005)
- Shende, P., Kasture P., Gaud, R.S. (2018)** Nanoflowers: the future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, *46*(1),413-422 DOI: [10.1080/21691401.2018.1428812](https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1428812)
- Shrivastava, S., Bera, T., Ro, A., Singh, G., Ramachandrarao, P. & Dash, D. (2007)** Characterization of enhanced antibacterial effects of novel silver nanoparticles. *Nanotechnology* *18*, 225103. DOI: [10.1088/0957-4484/18/22/225103](https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/22/225103)
- Somturk, B., Hancer, M., Ocsoy, I. & Özdemir, N. (2015)** Synthesis of copper ion incorporated horseradish peroxidase-based hybrid nanoflowers for enhanced catalytic activity and stability. *Dalton Trans* *44*(31), 13845-52. DOI: [10.1039/c5dt01250c](https://doi.org/10.1039/c5dt01250c)
- Sun, J., Ge, J., Liu, W., Lan, M., Zhang, H., Wang, P., Wang, Y. & Niu, Z. (2014)** Multi-enzyme co-embedded organic-inorganic hybrid nanoflowers: synthesis and application as a colorimetric sensor. *Nanoscale* *6*, 255-262. DOI: [10.1039/c3nr04425d](https://doi.org/10.1039/c3nr04425d)
- Thawari, A.G. & Rao, C.P. (2016)** Peroxidase-like catalytic activity of copper-mediated protein-inorganic hybrid nanoflowers and nanofibers of β-lactoglobulin and α-lactalbumin: synthesis, spectral characterization, microscopic features, and catalytic activity. *ACS Applied Material & Interfaces* *8*(16), 10392-10402. DOI: [10.1021/acsami.5b12591](https://doi.org/10.1021/acsami.5b12591)
- Yilmaz, E., Ocsoy, I., Ozdemir, N. & Soylak, M. (2016)** Bovine serum albumin-Cu(II) hybrid nanoflowers: an effective adsorbent for solid phase extraction and slurry sampling flame atomic absorption spectrometric analysis of cadmium and lead in water, hair, food and cigarette samples. *Anal. Chim Acta* *906*, 110-117. DOI: [10.1016/j.aca.2015.12.001](https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.001)
- Wu, Z., Wang, Z., Zhang, y., Ma, Y., He C., Li, H., Chen, L., Huo, Q., Wang, I. & Li, Z. (2016)** Amino acids-incorporated nanoflowers with an intrinsic peroxidase-like activity. *Sci. Rep.* *6*, 22412. DOI: [10.1038/srep22412](https://doi.org/10.1038/srep22412)



Removing of SARS-CoV-2 from Water and Wastewater with Membrane Technologies-A Brief Review

Yasemin YILDIZ^{1*} Gurkan MURATDAGI²

¹Sakarya University, Vocational School of Health Services, Sakarya, Turkey.

²Sakarya University, Faculty of Medicine, Department of Family Medicine, Sakarya, Turkey

Geliş/Received: 29.11.2020

Kabul/Accepted: 08.04.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Yıldız, Y. & Muratdagi, G (2021). Removing of SARS-CoV-2 from Water and Wastewater with Membrane Technologies-A Brief Review. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 162-169.

Atıf yapmak için: Yıldız, Y. & Muratdagi, G. (2021). Membran Teknolojileriyle Su ve Atık Sudan SARS-CoV-2'nin Uzaklaştırılması-Kısa Bir Derleme. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 162-169.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-2855-0496>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-9629-3973>

*Corresponding author's:
Yasemin YILDIZ
Sakarya University, Vocational School of
Health Services, Sakarya, Turkey
✉: yyildiz@sakarya.edu.tr

Abstract: In the last century, the world has faced many factors that cause pandemics. There have been three major epidemics caused by coronaviruses in the last 17 years. World Health Organization (WHO) announced on March 11 2020 that the most recent outbreak, SARS-CoV-2, turned from epidemic to global pandemic. Although the fact that the major transmission routes of SARS-CoV-2 are inhalation of aerosol/droplet and person-to-person contact, available evidence indicates the viral RNA existence in wastewater. This situation brings out the need for a better understanding of wastewater amongst other human health risks factors. The aim of this article is to review the available knowledge related to SARS-CoV-2 and its presence in wastewater/water, usage of membrane technologies for the removal of SARS-CoV-2 in wastewater/water, and effect of SARS-CoV-2 on public health. Although currently available datas are limited for removal of SARS-CoV-2 with purification techniques, membrane technologies can be a potential candidate for reducing the impact of the ongoing COVID-19 outbreak.

Keywords: SARS-CoV-2, public health, water, wastewater, removal and membrane Technologies.

Membran Teknolojileriyle Su ve Atık Sudan SARS-CoV-2'nin Uzaklaştırılması-Kısa Bir Derleme

Öz: Dünya, bir asırdır salgınlara neden olan birçok faktörle karşı karşıya kaldı. Son 17 yılda koronavirüslerin neden olduğu üç büyük salgın yaşandı. En son salgın olan SARS CoV-2'i Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 11 Mart 2020'de salgından küresel pandemiye dönüştüğünü duyurdu. SARS-CoV-2'nin ana bulaşma yollarının kişiden kişiye temas ve aerosol / damlacık inhalasyonu olmasına rağmen, viral RNA'nın atık suda bulunduğunu gösteren mevcut kanıtlar da vardır. Bu durum, insan sağlığı risk faktörleri arasında atık suyun daha iyi anlaşılması ihtiyacını ortaya çıkarmaktadır. Bu makale, SARS-CoV-2 ile ilişkili mevcut bilgileri ve onun atık sulardaki varlığını, sudaki/atık sudaki SARS CoV-2'nin giderilmesi için membran teknolojilerini ve SARS-CoV-2'nin halk sağlığı üzerindeki etkisi ile ilgili mevcut bilgileri gözden geçirmeyi amaçlamaktadır. Hali hazırda mevcut veriler, saflaştırma teknikleriyle SARS-CoV-2 giderimi için sınırlı olsa da, membran teknolojileri, devam eden COVID 19 salgınının etkisini azaltmada potansiyel bir aday olabilir

*Sorumlu yazar:
Yasemin YILDIZ
Sakarya Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri
Meslek Yüksekokulu, Sakarya 54100,
Türkiye
✉: yyildiz@sakarya.edu.tr

Anahtar kelimeler: SARS-CoV-2, halk sağlığı, su, atıksu, uzaklaştırma ve membran teknolojileri.

INTRODUCTION

The new coronavirus disease, known as Covid-19 (SARS-CoV-2), emerged in Wuhan, China in December 2019. It started to spread rapidly. Public Health Emergency of International Concern announced epidemic on 30 January 2020. World Health Organization (WHO) updated outbreak from epidemic to global pandemic on March 11 2020. Globally, 29 November 2020, there have been 61.869.330 confirmed cases of SARS-CoV-2, including 1.448.896 deaths, reported to WHO.

Coronavirus virion is virus that is enveloped, spherical, and about 120 nm in diameter which severe acute respiratory syndrome-related coronavirus in the subgenus sarbecovirus of the family coronaviridae (Kitajima et al., 2020; Rosa et al., 2020). Although it firstly influences the respiratory system of patients, it has a wide series of symptoms, especially the symptoms of the digestive system are common among patients. Also, a significant number of infected people are asymptomatic or have soft evidences, but they can still infect the virus. In the first cases, SARS-CoV-2 transmission was reported to occur from patients with direct contact and sneezing or coughing. However, it has been reported that virus may stay alive on surface and the viability period of the virus may change depending on the surface feature. In addition, SARS-CoV-2 RNA was also identified in human feces in at least 39% of patients tested, thus presenting the possibility of fecal-oral transmission (Lesimple et al., 2020). It is understood that this possibility is a strong assumption considering that the virus enters the cells via angiotensin converting enzyme 2 (ACE 2) receptor. Because ACE 2 receptor has been determined to be highly expressed in epithelial cells of the gastrointestinal tract. That is, SARS-CoV-2 can be actively infected and multiplied in the gastrointestinal tract (Hakim & Sarı, 2020). To date, many studies have been conducted showing that viruses are proliferating in the gastrointestinal tract, and that 2-10% of COVID-19 (SARS-CoV-2) patients have gastrointestinal symptoms, including diarrhea (Chen et al., 2020a, Chen et al., 2020b; Gao et al., 2020; Leung et al., 2003; Wang et al., 2020a, Wang et al., 2020b, Wang et al., 2020c; Zhou et al., 2017). Nowadays, there are many studies demonstrating the presence of viral RNA in feces or anal / rectal swabs (Holshue et al., 2020; Tang et al., 2020; Xu et al., 2020; Young et al., 2020; Zhang et al., 2019).

There has been increasing arguments about gastrointestinal symptoms caused by SARS-CoV-2 infections and the presence of viral RNA, not only in feces of infected individuals but also in wastewater. Wastewater and wastewater treatment is a wide field and complete description of it is not the aim of this review. This work will focus on the literature containing membrane techniques used for virus removal. Usage of model viruses to evaluate the

efficiency of wastewater treatment methods and membrane techniques will be introduced. But, current knowledge of the presence of CoVs in wastewater will likely be limited due to the lack of previous environmental research focusing on CoVs. (Hakim & Sarı, 2020; Ling et al., 2019; Ong et al., 2020; Yang et al., 2020; Zhang et al., 2019).

This study will provide information that will help us understand the relationship of SARS-CoV-2 in wastewater/water and public health risks.

MATERIAL

The review was prepared based on literature search in the following databases for publications up to 29 November 2020; Pub Med; Web of Science, ScienceDirect, Google scholar and ResearchGate. The keywords utilized for the search were; Coronavirus or Severe Acute Respiratory Syndrome or SARS or SARS-CoV or SARS-CoV-2 or COVID-19 and Wastewater/water or Sewage or Feces or Gastrointestinal infections. All results of the search were scanned manually for related information and their references also searched for additional publications that may be relevant. Articles reporting on SARS-CoV-2 that do not present information on the detection of the virus in feces, wastewater/water, and sewage were only taken into consideration on condition that, they offered information on the structures of these viruses and pandemics.

Survival of SARS-CoV-2 in Water and Wastewater and Its Effect on Public Health: Inactivation of pathogens in water and wastewater is important as it is among the risk factors affecting human health. In many studies, coronavirus has been found to remain in wastewater, chlorine-free tap water, urine and feces for a long time. In the statement made by the world healthy organization; it was stated that there is no evidence that the virus survived in wastewater and drinking water. The statement also claims that it has more sensitivity than most non-enveloped viruses (WHO, 2020d). In this case, existing wastewater treatment plants are sufficient to inactivate SARS-CoV-2. Although limited, some studies have reported that SARS-CoV-2 stays in aquatic environments for a long time and retains its contamination, depending on temperature and physicochemical factors (Pratelli, 2008). When considered from this point of view, identifying and controlling these factors are consequential to state the permanence of SARS-CoV-2 in sewage and environmental waters. The presence of respiratory viruses, including adenoviruses, coxsackieviruses and CoVs in wastewater has been reported in previous studies (Sinclair et al., 2008; Wang et al., 2005a; Wigginton et al., 2015). Although the etiological agent is not often described, there is no uncertainty that swimming in sewage contaminated waters is connected with respiratory disease (Wade et al., 2010). In Switzerland, there was no

health effect on garbage collectors and wastewater treatment plant (WWTP) workers (Tschopp et al., 2011). Unlike Tschopp et al., (2011) studies, gastrointestinal effects were seen in three other studies, and two of these three studies attracted attention with effects on respiratory health (Khuder et al., 1998, Lee et al., 2009, Smit et al., 2005). Although there are differences among the studies; wastewater treatment plants pose a risk to both employees and public health. In this case, the first solution that comes to mind is the agents that can be used to remove SARS-CoV-2. Chin et al., (2020) reported that the SARS-CoV-2 was removed with chemicals such as bleach, ethanol, benzylalkonium chloride, povidone iodine and chloroxylonol in the 2020 studies. These studies show that SARS-CoV-2 can be inactivated by temperature and chemicals. It has even been confirmed by the United States Environmental Protection Agency (USEPA) that some disinfectants inactivate SARS-CoV-2 (USEPA, 2020). According to USEPA, suitable disinfectants with proven efficacy against enveloped viruses should be used (eg hypochlorite [bleach], alcohol, hydrogen peroxide, quaternary ammonium compounds and phenolic compounds) (Kitajima et al., 2020). Even if these disinfectants are used, fecal shedding from patients or carriers still pose a risk in common toilets, bathrooms, pools and wastewater. Therefore, in order to remove the virus from these areas, it is first necessary to identify the virus in these areas. It is known that too much research is needed for identification and the difficulty of these researches.

Common areas can be cleaned frequently to avoid possible risks, but this is not the case in wastewater. Casual changes in viral concentrations in wastewater can lead to the asset or nonexistence of a virus, epidemics in the population, and their impact on public health. Therefore, wastewater monitoring can be an important technique to evaluate and deal with viral outbreaks and to protect public health. Considering that SARS-CoV-2 patients with very mild symptoms will not be identified and approximately 80% of the contacts will be missed, monitoring SARS-CoV-2 in wastewater will be important in determining the incidence of the disease. Thus, wastewater-based epidemiology is thought to be an early warning system for public health and future viral disease outbreaks. However, the difficulty of applying this technique is also known. Some of these challenges are the amount and dynamics of viral spills in the feces, viral persistence in the sewer network, change in the wastewater flow from the climate. So, SARS-CoV-2's surveillance in wastewater is valuable; it is clear that it should be integrated into other public health initiatives. For this, a harmonious approach is required in clinical and wastewater samples (Farkas et al., 2020).

Membrane Technologies in Wastewater Treatment For SARS-CoV-2 Removal: World Health Organization (WHO) emphasized the importance of

managing wastewater safely in its temporary guide dated April 23, 2020. This document has been updated on July 29, 2020. In this temporary guide, WHO provides information on virus-related waste management, water, sanitation, hygiene (WASH) and waste management and infection prevention and control (IPC) documentation, including coronaviruses. According to the guideline, providing WASH and waste management practices in communities has a significant role in preventing transmission of pathogens from person to person. In addition, this updated guide includes risks related to feces and untreated sewage, hand hygiene, protection of WASH workers and maintenance and strengthening of WASH services. It is also stated in the guide that water disinfection and wastewater treatment be able to decrease viruses. It is emphasized that by implementing waste management, many other infectious diseases can be prevented and health benefits can be achieved. Although SARS-CoV-2 is possible in untreated drinking water, no infectious virus has been detected in drinking water sources. But, it was shown to state RNA fragments of SARS-CoV-2 in a river in northern Italy. This incident is thought to be influenced by the raw, untreated sewage of the river. Starting in February and March 2020, generally, RNA fragments of SARS-CoV-2 have been found in untreated sewage and sludge in many countries and municipalities (WHO, 2020). These events reveal that wastewater treatment should be well understood and applied. But, the full description of wastewater treatment is not the goal of this review. This work will concentrate on the literature membrane technologies used for virus removal. The effectiveness of membranes in removing virus from wastewater/water will be evaluated. Water filtration membranes are basically divided into four as Reverse Osmosis, Nanofiltration, Ultrafiltration and Microfiltration. Given that the size of the SARS-CoV-2 is 100µm, membranes such as Reverse Osmosis, Nanofiltration and Ultrafiltration should be suitable for its removal (Lesimple et al., 2020). The utmost frequently utilize membrane technologies in wastewater treatment are the microfiltration (0.1–0.2 µm) and ultrafiltration (0.005 ≈ 10 µm). Table 1 is shown details of some studies examining the effectiveness of membranes in removing the virus from water and wastewater.

Ultrafiltration will be a suitable membrane technique for removing coronaviruses with mean viral particle diameter of 120 nm (0.12 µm) and envelope diameter of 80 nm (0.08 µm) (Neuman & Buchmeier, 2016). Their adsorption to solids in wastewater may cause an increase in the removal of coronaviruses. Studies have been carried out in which different viruses and pathogens are removed by the membrane by 50% Chaudhry et al., (2015). Studies involving microfiltration membranes with large pore sizes (0.2-0.4) have also been conducted (Nqombolo et al., 2018). Aani et al., (2020) have examined the bacteria and virus

removal of ultrafiltration in wastewater and reported their use. Gentile et al., (2018) declared that they removed bacteriophage pp7 using a polyethersulfone ultrafiltration membrane with a mean membrane pore size of 67 nm. They also modeled virus and membrane electrostatic interaction forces in their studies. Divalent cations in feed solutions have been concluded to have a negative influence on viral removal efficacy owing to change of electrostatic interactions. There was no significant change in the size of the bacteriophage with pH or ionic strength in their studies. It has also been stated that at the pH of environmental waters (5 to 8), viruses form minor aggregates and complicate membrane-based disinfection processes. For bacteriophage PP7, changes in pH did not modify modeling estimates for stability and binding. With their results, the authors stressed the significance of electrostatic repulsion in virus removal by membrane filtration. Also, the microfiltration membrane is more suitable for the removal of protozoa and bacteria rather than smaller viruses. This is only separation with sieving mechanisms (Kwarciak-Kozłowska & Włodarczyk, 2020). Sinclair et al., (2018) varied a microfiltration membranes by utilization a cationic polymer. These membranes were recommended for low pressure water filtration point because of their high water permeability (Lesimple et al., 2020). Among all these pathogens, SARS-CoV-2 is a potentially deadly virus for humans and some measures should be taken to conduct scientific tests. For this, the Center for Disease Control and Prevention (CDC) ensures guidelines for Biosafety and COVID-19 (SARS-CoV-2). In some studies, wastewater testing was performed using murine hepatitis virus (MHV) instead of SARS-CoV-2 against the dangers mentioned in the Guidelines. Murine hepatitis virus (MHV) is a member of the same genus as SARS-CoV-2. MHV was utilized as representative of human CoV in studies. Studies have been conducted examining the efficiency of MHV recovery from wastewater. The efficiency of seven virus concentration methods was evaluated in untreated wastewater samples. They found that ultrafiltration using centrifugal concentration devices may also be appropriate for recovery of MHV. The difference in recovery was due to the difference in surface areas of the devices used, hence, more MHV was lost through adsorption to the membrane via van der Waals interactive forces and / or hydrophobic bonding. The results obtained in this study; Centricon recovered 75% of MS2 coliphage, 61% of Echovirus 1, 95% of Poliovirus 1 and 109% of Coxsackievirus B5; only 33% of 2 of the adenovirus were recovered. The result obtained for MHV is alike to Adenovirus. In this case, it shows that a particular centrifugal concentration device can provide factor recovery for different classes of virus. It was also stated that the recovery performance of diverse representative CoV or SARS-CoV-2 from various volumes of wastewater should be evaluated to

better figure out how these variables influence the recovery performance (Ahmed et al., 2020). Reverse osmosis has often been found to be rarely used to remove pathogens from water due to its combination with a pre-treatment system, usually ultrafiltration. However, RO can be utilized with an appropriate pretreatment to remove particulate matter and to complete the removal of residual contaminants after treatment (Tang et al., 2018). In addition, there are studies showing that the membrane bioreactor / reverse osmosis systems have low efficiency in virus removal (Prado et al., 2019). To date, many studies have been carried out with Membrane bioreactor (MBR) treatment for different virus types (Chaudhry et al., 2015; Kuo et al., 2010; Miura et al., 2018; O'Brien & Xagorarakis, 2020; Prado et al., 2019; Purnell et al., 2016; Simmons et al., 2011). Retention or size exclusion is its main mechanism in removal of viral and other pathogen (Dennis et al., 2020; Lesimple et al., 2020; Nqombolo et al., 2018). Im et al., (2018) applied ceramic membranes after pretreatment to remove virus. They utilized the F-specific bacteriophage MS2 (MS2; NBRC 102619, NITE Biological Research Center, Japan) as a model virus that has a single-stranded RNA encapsulated with a diameter of 24–26 nm. In a pilot plant, they achieved removal of MS2. Membrane fouling, which is a technical challenge that causes a decrease in membrane performance has been reduced with pretreatments. They performed their applications as a pretreatment by combining ozonation, coagulation and ceramic membrane filtration. This work had multiple purposes. Among these objectives was located that to peruse the performance of O₃ + PACl + CMF; to remove virus in O₃ + PACl + CMF; to study the effects of ozonation on virus removal in subsequent coagulation. (coagulation with polyaluminium chloride (PACl)). At the end of the study; they stated that ozonation can considerable abate reversible pollution. However, although ozonation deactivated MS2, it reduced the rate of MS2 removal in after PACl + CMF. This is because ozonation inclined to block MS2 coagulation. The reason for inhibition is the negative charge that increases during ozonation. This makes it difficult for the coagulants to neutralize the surface charge. Coagulation can be said to be a more effective pretreatment for CMF than ozonation in terms of eliminating both viruses (Im et al., 2019). Goswami et al., (2020) discussed the applications of polymeric and ceramic membranes to remove virus from water. The reported removal performances were quite changeable as the reported range was 0.2-7. Present research fields concentrate on ever application of nanotechnology for the solid waste administration, and wastewater treatment due to their diverse antibacterial activity. Chemical activity enhances with their small dimension and large surface areas. For example, noble metal nanoparticles utilize disinfection of E. coli and ensue very well. Nanomaterials also provide a separate, high

efficiency and recyclable water cleaning system that abates water loss and improves quality. It can be applied for bacteria and viruses with a diameter of more than 50-60 nm. Nanomaterials are used to remove and inactivate viruses in wastewater, emerge as a large area. The practice of nanomaterials is deeply connected with their physical properties. For water treatment, nanotechnology has some advantages such as time saving, high efficiency, space saving and simple treatment methods. Fullerenes, photocatalysts containing nanomaterials such as CNTs, TiO₂ and ZVIs are used in membranes (Indarto et al., 2020; Ojha, 2020; Sahu, et al., 2019). Silver Multiwall nanotubes (Ag-MWCNT), which achieved a 100% removal for several different viruses, were expressed in a study by Kim et al., (2016). They expressed a new MWCNT-silver (Ag) nanofilter, which nanofilter had high permeability. They applied this nanofilter to successfully remove bacterial and viral pathogens from water at low pressure. In former works, a CNT-Ag nanofilter in which Ag nanoparticles were synthesized at the CNT surface was not reported. This filter has been manufactured using key features such as the minor diameter and superior surface area of CNTs, the trends of CNTs to collection and form extremely porous structures,

the low melting point of Ag nanoparticles, and the antibacterial activity of Ag nanoparticles. They also stated in this study that viruses can be eliminated by nanotube bundles in the CNT-Ag layer. CNT-Ag nano filter has been specially designed to remove various viruses and bacteria from water in a highly efficient manner. In addition, the lack of supplementary processes to destroy viruses and bacteria makes an important benefit in terms of production costs. Taking all its advantages, it is thought that their CNT-Ag nano filter can provide sufficient solutions for water treatment and other separation processes. Furthermore, researches using Cu₂O / MWCNT filters and a Cu₂O coated MWCNT membrane was carried out to remove MS2 virus from water (Domaga et al., 2020; Nemeth et al., 2019). In a different study, the smectic liquid-crystal ionic membrane removal of three viruses, Q5 bacteriophage, MS2 bacteriophage and Aichi virus were investigated. In all these studies, viruses were reduced (Kuo et al., 2020). They provide upper virus removal for liquid crystal water treatment membranes. Liquid crystal creates 2D layered nano channels that allow excellent virus removal as continuing effective water flow. The removal efficiency is 99.9 %.

Table 1. Details of some membranes studies in removing the viruses from water and wastewater.

Water type	Methods	Results of Removal for Virus	Reference
Wastewater	Membrane Bioreactor (MBR)	50%	Chaudhry et al., (2015).
Water	Polyethersulfone ultrafiltration(modeled virus)	Logarithmic Removal Values (LRV) 1.50 - 2.83	Gentilela et al., (2018)
Water	Microfiltration membrane	>4.5 logs	Kwarciaak-Kozłowska and Włodarczyk, (2020)
Water	Polyethyleneimine (PEI) coated onto commercially polyether sulfone (PES)	99.9%	Sinclair et al., (2018)
Wastewater	Electronegative membrane, polyethylene glycol (PEG 8000) precipitation, and ultracentrifugation	from 26.7 to 65.7%.	Ahmed et al., (2020)
Water	Reverse osmosis	≥4 log	Tang et al., (2018)
Wastewater	Membrane Bioreactor / Reverse Osmosis	2.3-2.9 log ₁₀	Prado et al., (2019)
Wastewater	Membrane Bioreactor / Reverse Osmosis and sand-anthracite filters	0.3 to 0.8 log ₁₀	Prado et al., (2019)
Wastewater	Membrane bioreactor (MBR)	2 - 3 log ₁₀	Miura et al., (2018)
Wastewater and Potable water	Membrane Bioreactor	2 - 3 log ₁₀	Purnell et al., (2016)
Wastewater	Membrane Bioreactor (MBR)	≥4 log	Chaudhry et al., (2015)
Wastewater	Membrane Bioreactor (MBR)	1 to 2 log	Simmons et al., (2011)
Wastewater	Membrane Bioreactor (MBR)	5.0 ± 0.6 logs	Kuo et al., (2010)
Wastewater	Ceramic membranes (with model virus)	> 12-log	Im et al., (2018)
Wastewater	Nanomaterials such as CNTs, TiO ₂ and ZVIs are used in membranes		(Indarto et al., 2020; Ojha, 2020; Sahu, et al., 2019)
Water	Silver Multiwall nanotubes (Ag MWCNT)	100%	Kim et al., (2016).
Water	Cu ₂ O / MWCNT filters and a Cu ₂ O coated MWCNT membrane		(Domaga et al., 2020; Nemeth et al., 2019).
Water	Smectic liquid-crystal ionic membrane	99.9 %.	Kuo et al., (2020).

CONCLUSION

SARS-CoV-2 is a potentially deadly virus for humans, and some precautions must be taken to conduct scientific testing. Therefore, testing was performed using murine hepatitis virus (MHV) instead of SARS-CoV-2 against the dangers mentioned in the guidelines for Biosafety and COVID-19 (SARS-CoV-2) in some studies.

When the membranes were examined for virus separation, in most cases, the membranes used for this purpose were micro and ultrafiltration. Here, the relation between the pore size and the virus size is important for a proper separation. Although membranes with larger pore sizes can retain viruses, they cannot be regarded as

effective tools for virus separation as they may produce irreversible pore blockaging in the membrane. Smaller virus particles may enter the pores of the membrane, which reduces membrane lifetime because of contamination. As a measure to overcome the above mentioned difficulties, some studies put forward an idea of the coating the membrane surface. In the results of these studies, the coating on the membrane surface is not only seen to reduce the pore size, but in some cases the coating interacts with the virus, which increases the efficiency of the removal. Some of these coatings are as follows: Cu₂O / MWCNT filters, a Cu₂O coated MWCNT membrane and silver Multiwall nanotubes (Ag-MWCNT), which achieved a 100% removal for several different viruses. These results

are promising for future studies. The spread of the virus can be greatly reduced by integrating this method into the wastewater management of cities.

REFERENCES

- Aani, S.A., Mustafa, T.N. & Hilal, N. (2020).** Ultrafiltration membranes for wastewater and water process engineering: a comprehensive statistical review over the past decade. *Journal of Water Process Engineering*, **35**, 101241.
- Ahmed, W., Bertsch, P.M., Bivins, A., Bibby, K., Farkas, K., Gathercole, A., Haramoto, E., Gyawali, P., Korajkic, A., McMinn, B.R., Mueller, J.F., Simpson, S.L., Smith, W.J.M., Symonds, E.M., Thomas, K.V., Verhagen, R. & Kitajimal, M. (2020).** Comparison of virus concentration methods for the RT-qPCR- based recovery of murine hepatitis virus, a surrogate for SARS-CoV-2 from untreated wastewater. *Science of the Total Environment*, **739**, 139960.
- C. Center for Disease Control. (2020).** *Interim Guidelines for Biosafety and COVID-19*.
- Chaudhry, R.M., Nelson, K.L. & Drewes, J.E. (2015).** Mechanisms of pathogenic virus removal in a full-scale membrane bioreactor. *Environmental Science & Technology*, **49**(5), 2815-2822.
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., Qiu, Y., Wang, J., Liu, Y., Wei, Y., Xia, J., Yu, T., Zhang, X. & Zhang, L. (2020a).** Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*, **395**, 507-513. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7
- Chen, Y., Wei, Q., Li, R., Gao, H., Zhu, H., Deng, W., Bao, L., Tong, W., Cong, Z., Jiang, H. & Qin, C. (2020b).** Protection of Rhesus Macaque from SARS-Coronavirus Challenge by Recombinant Adenovirus Vaccine. *bioRxiv* 2020. DOI: 10.1101/2020.02.17.951939
- Chin, A., Chu, J., Perera, M., Hui, K., Yen, H.L., Chan, M., Peiris, M. & Poon, L. (2020).** Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *medRxiv*, 2-5. DOI: 10.1101/2020.03.15.20036673
- Dennis, I., Sheena, A. & Bux, K.F. (2020).** Coronaviruses in wastewater processes-Source, fate and potential risks. *Environment International*, **143**, 105962. DOI: 10.1016/j.envint.2020.105962
- Domagala, K.W., Jacquin, C., Borlaf, M., Sinnet, B., Julian, T., Kata, D. & Graule, T.J. (2020).** Efficiency and stability evaluation of Cu₂O/MWCNTs filters for virus removal from water. *Water Research*, **179**, 115879.
- Farkas, K., Hillary, L.S., Malham, S.K., McDonald, J.E. & Jones, D.L. (2020).** Wastewater and public health: the potential of wastewater surveillance for monitoring COVID-19. *Current Opinion in Environmental Science & Health*, **17**, 14-20. DOI: 10.1016/j.coesh.2020.06.001
- Gao, Q.Y., Chen, Y.X. & Fang, J.Y. (2020).** 2019 novel coronavirus infection and gastrointestinal tract. *Journal of Digestive Diseases*, **21**, 125-126. DOI: 10.1111/1751-2980.12851.
- Gentile, G.J., Cruz, M.C, Rajal, V.B. & Cortalezzi, M.M.F. (2018).** Electrostatic interactions in virus removal by ultrafiltration membranes. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **6**(1), 1314-1321.
- Goswami, K.P. & Pugazhenti, G. (2020).** Credibility of polymeric and ceramic membrane filtration in the removal of bacteria and virus from water: A review. *Journal Environmental Management*, **268**, 110583. DOI: 10.1016/j.jenvman.2020.110583
- Hakim, D.G. & Özer Sarı, S. (2020).** Covid-19 and Gastrointestinal System. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi*, **30**, 112-117. DOI: 10.5222/terh.2020.96630
- Holshue, M.L., DeBolt, C., Lindquist, S., Lofy, K. H., Wiesman, J., Bruce, H., Spitters, C., Ericson, K., Wilkerson, S., Tural, A., Diaz, G., Cohn, A., Fox, L., Patel, A., Gerber, S.I., Kim, L., Tong, S., Lu, X., Lindstrom, S., Pallansch, M.A., Weldon, W.C., Biggs, H.M., Uyeki, T. M. & Pillai, S.K. (2020).** First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *The New England Journal of Medicine*, **382**(10), 929-936.
- Im, D., Nakada, N., Fukuma, Y., Kato, Y. & Tanaka, H. (2018).** Performance of combined ozonation, coagulation and ceramic membrane process for water reclamation: effects and mechanism of ozonation on virus coagulation. *Separation and Purification Technology*, **192**, 429-434. DOI: 10.1016/j.seppur.2017.10.044
- Im, D., Nakada, N., Kato, Y., Aoki, M. & Tanaka, H. (2019).** Pretreatment of ceramic membrane microfiltration in wastewater reuse: a comparison between ozonation and coagulation. *Journal of Environmental Management*, **251**, 109555. DOI: 10.1016/j.jenvman.2019.109555.
- Indarto, A., Ikhsan, N.A. & Wibowo, I. (2020).** Chapter 20 - applications of carbon nanotubes for controlling waterborne pathogens. in: M.N. Vara Prasad. A. Grobelak (Eds.), *Waterborne Pathogens*, Butterworth-Heinemann, 433-461.
- Khuder, S.A., Arthur, T., Bisesi, M.S. & Schaub, E.A. (1998).** Prevalence of infectious diseases and associated symptoms in wastewater treatment workers. *American Journal of Industrial Medicine*, **33**, 571-577.
- Kim, J.P., Kim, J.H., Kim, J., Lee, S.N. & Park, H.O. (2016).** A nanofilter composed of carbon nanotube-silver composites for virus removal and antibacterial activity improvement. *Journal of Environmental Sciences*, **42**, 275-283. DOI: 10.1016/j.jes.2014.11.017
- Kitajima, M., Ahmed, W., Bibby, K., Carducci, A., Gerba, C.P., Hamilton, K.A., Haramoto, E. & Rose, J.B. (2020).** SARS-CoV-2 in wastewater: State of the knowledge and research needs.

- Science of The Total Environment*, **739**, 139076. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2020.139076](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139076).
- Kuo, D.H.W., Simmons, F.J., Blair, S., Hart, E., Rose, J.B. & Xagorarakı, I. (2010).** Assessment of human adenovirus removal in a full-scale membrane bioreactor treating municipal wastewater. *Water Research*, **44**(5), 1520-1530.
- Kuo, D., Liu, M., Kumar, K.R.S., Hamaguchi, K., Gan, K.P., Sakamoto, T., Ogawa, T., Kato, R., Miyamoto, N., Nada, H., Kimura, M., Henmi, M., Katayama, H. & Kato, T. (2020).** High virus removal by self-organized nanostructured 2D liquid-crystalline smectic membranes for water treatment. *Small*, **16**, 2001721 (1-5). DOI: [10.1002/sml.202001721](https://doi.org/10.1002/sml.202001721)
- Kwarcıak Kozłowska, A. & Włodarczyk, R. (2020).** Chapter 5 - treatment of waterborne pathogens by microfiltration, in: M.N. Vara Prasad. A. Grobelak (Eds.), *Waterborne Pathogens*, Butterworth-Heinemann, 81-103.
- Lee, N., Chan, P.K.S., Hui, D.S.C., Rainer, T.H., Wong, E., Choi, K.W., Lui, G.C.Y., Wong, B.C.K., Wong, R.Y.K., Lam, W.Y., Chu, I.M.T., Lai, R.W.M., Cockram, C.S. & Sung, J.Y. (2009).** Viral loads and duration of viral shedding in adult patients hospitalized with influenza. *The Journal of Infectious Diseases*, **200**, 492-500. DOI: [10.1086/600383](https://doi.org/10.1086/600383)
- Lesimple, A., Y. Jasim, S., Johnson, D.J. & Hilal, N. (2020).** The role of wastewater treatment plants as tools for SARS-CoV-2 early detection and removal. *Journal of Water Process Engineering*, **38**, 101-544. DOI: [10.1016/j.jwpe.2020.101544](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101544).
- Leung, W.K., To, K.F., Chan, P.K.S., Chan, H. L. Y., Wu, A.K.L., Lee, N., Yuen, K.Y. & Sung, J.J.Y. (2003).** Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome - associated coronavirus infection. *Gastroenterology*, **125**, 1011-1017.
- Ling, Y., Xu, S.B.X., Lin, X., Tian, D., Zhu, Z.Q., Dai, F.H., Wu, F., Song, Z.G., Huang, W., Chen, J., Hu, B.J., Wang, S., Mao, E.Q., Zhu, L., Zhang, Zhou, W.H. & Lu, H.Z. (2020).** Persistence and clearance of viral RNA in 2019 novel coronavirus disease rehabilitation patients. *Chinese Medical Journal*. DOI: [10.1097/CM9.0000000000000774](https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000774).
- Miura, T., Schaeffer, J., Saux, J.C.L., Guyader, P.L.M. & F.S.L. (2018).** Virus typespecific removal in a full-scale membrane bioreactor treatment process. *Food and Environmental Virology*, **10**(2), 176-186.
- Neuman, B. & Buchmeier, M.J. (2016).** Supramolecular architecture of the coronavirus particle. In: Advances in virus research. *Academic Press*, **96**, 1-27. DOI: [10.1016/bs.aivir.2016.08.005](https://doi.org/10.1016/bs.aivir.2016.08.005)
- Németh, Z., Szekeres, G.P., Schabikowski, M., Schrantz, K., Traber, J., Pronk, W., Hernádi, K. & Graule, T. (2019).** Enhanced virus filtration in hybrid membranes with MWCNT nanocomposite. *Royal Society Open Science*, **6**(1), 181294.
- Nqombolo, A., Mpupa, A., Moutloali, R. & Nomngong, P.N. (2018).** Wastewater treatment using membrane technology. *Wastewater and Water Quality*, 29p.
- O'Brien, E. & Xagorarakı, I. (2020).** Removal of viruses in membrane bioreactors. *Journal of Environmental Engineering*, **146**(7).
- Ojha, A. (2020).** Chapter 19 - nanomaterials for removal of waterborne pathogens: opportunities and challenges, in: M.N. Vara Prasad. A. Grobelak (Eds.), *Waterborne Pathogens*, Butterworth-Heinemann, 385-432.
- Ong, S.W.X., Tan, Y.K., Chia, P.Y., Lee, T.H., Ng, O.T., Wong, M.S.Y. & Marimuthu, K. (2020).** Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA*, **323**, 1610-1612. DOI: [10.1001/jama.2020.3227](https://doi.org/10.1001/jama.2020.3227).
- Prado, T., Bruni, A.C., Barbosa, M.R.F., Garcia, S.C. Melo, A.M.J. & Sato, M.I.Z. (2019)** Performance of wastewater reclamation systems in enteric virus removal. *Science of the Total Environment*, **678**, 33-42. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2019.04.435](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.435).
- Prado, T., Bruni, A.C., Barbosa, M.R.F., Garcia, S.C., Moreno, L.Z. & Sato M.I.Z. (2019).** Noroviruses in raw sewage, secondary effluents and reclaimed water produced by sand-anthracite filters and membrane bioreactor/reverse osmosis system. *Science of the Total Environment*, **646**, 427-437. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.07.301](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.301)
- Pratelli, A. (2008).** Canine coronavirus inactivation with physical and chemical agents. *Veterinary Journal*, **177**, 71-79. DOI: [10.1016/j.tvjl.2007.03.019](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.03.019)
- Purnell, S., Ebdon, J., Buck, A., Tupper, M. & Taylor, H. (2016).** Removal of phages and viral pathogens in a full-scale MBR: implications for wastewater reuse and potable water. *Water Research*, **100**, 20-27.
- Rosa, G.L., Bonadonna, L., Lucentini, L., Kenmoe, S. & Suffredini, E. (2020).** Coronavirus in water environments: Occurrence, persistence and concentration methods - A scoping review. *Water Research*, **179**, 115899. DOI: [10.1016/j.watres.2020.115899](https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.115899).
- Sahu, J.N., Karri, R.R., Icon, Hossain M. Zayed, H.M., Xianghui Qi, X & S.S. (2019).** Current perspectives and future prospects of nanobiotechnology in wastewater treatment. *Separation & Purification Review*, 1-20.
- Simmons, F.J., Kuo, D.H.W. & Xagorarakı, I. (2011).** Removal of human enteric viruses by a full-scale membrane bioreactor during municipal wastewater processing. *Water Research*, **45**(9), 2739-2750.
- Smit, L., A.M., Spaan, S. & Heederik, D. (2005).** Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *American Journal of Industrial Medicine*, **48**, 30-39. DOI: [10.1002/ajim.20176](https://doi.org/10.1002/ajim.20176).

- Sinclair, R.G., Choi, C.Y., Riley, M.R. & Gerba, C.P. (2008).** Pathogen surveillance through monitoring of sewer systems. *Advances in Applied Microbiology*, **65**, 249-269. DOI: [10.1016/S0065-2164\(08\)00609-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)00609-6).
- Sinclair, T.R., et al., (2018).** Virus reduction through microfiltration membranes modified with a cationic polymer for drinking water applications. *Colloids and Surfaces A* **551**, 33-41.
- Tang, C.Y., Yang, Z., Guo, H., Wen, J.J., Nghiem, L.D. & Cornelissen, E. (2018).** Potable water reuse through advanced membrane technology. *Environmental Science & Technology*, **52**(18), 10215-10223.
- Tang, A., Tong, Z., Wang, H., Dai, Y., Li, K., Liu, J., Wu, W., Yuan, C., Yu, M., Li, P. & Yan, J. (2020).** Detection of novel coronavirus by RT-PCR in stool specimen from asymptomatic child, China. *Emerging Infectious Diseases*, **26**, 1-5. DOI: [10.3201/eid2606.200301](https://doi.org/10.3201/eid2606.200301)
- Tschopp, A., Bernard, A., Thommen, A.M., Jeggli, S., Dumont, X., Oppliger, A. & Hotz, P. (2011).** Exposure to bioaerosols, respiratory health and lung-specific proteins: a prospective study in garbage and wastewater workers. *Occupational and Environmental Medicine*, **68**, 856-859. DOI: [10.1136/oem.2010.060178](https://doi.org/10.1136/oem.2010.060178)
- Wade, T., Sams, E., Brenner, K.P., Haugland, R., Chern, E., Beach, M., Wymer, L., Rankin, C.C., Love, D., Li, Q., Noble, R. & Dufour, A.P. (2010).** Rapidly measured indicators of recreational water quality and swimming-associated illness at marine beaches: a prospective cohort study. *Environmental Health*, **9**(1), 66, 1-14. DOI: [10.1186/1476-069X-9-66](https://doi.org/10.1186/1476-069X-9-66)
- Wang, X.W., Li, J.S., Guo, T.K., Zhen, B., Kong, Q.X., Yi, B., Song, Z.L.N., Jin, M., Xiao, W.J., Zhu, X.M., Gu, C.Q., Yin, J., Wei, W., Yao, W., Liu, C., Li, J.F., Ou, G.R., Wang, M.N., Fang, T.Y., Wang, G.J., Hui Qiu, Y., Wu, H.H., Chao, F.H. & Li, J.W. (2005).** Concentration and detection of SARS coronavirus in sewage from Xiao Tang Shan Hospital and the 309th hospital. *Journal of Virological Methods*, **128**, 156-161. DOI: [10.1016/j.jviromet.2005.03.022](https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.03.022)
- Wang, C., Horby, P.W., Hayden, F.G. & Gao, G.F. (2020).** A novel coronavirus outbreak of global health concern. *Lancet*, **395**, 470-473. DOI: [10.1016/S0140-6736\(20\)30185-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30185-9).
- Wang, D., Hu, B., Hu, C., Zhu, F., Liu, X., Zhang, J., Wang, B., Xiang, H., Cheng, Z., Xiong, Y., Zhao, Y., Li, Y., Wang, X. & Peng, Z. (2020).** Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*, **323**(11), 1061-1069. DOI: [10.1001/jama.2020.1585](https://doi.org/10.1001/jama.2020.1585)
- Wang, W., Xu, Y., Gao, R., Lu, R., Han, K., Wu, G. & Tan, W. (2020).** Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA*, **323** (18)-1843-1844. DOI: [10.1001/jama.2020.3786](https://doi.org/10.1001/jama.2020.3786).
- WHO (World Health Organization) Interim guidance 29 July 2020.** *Water, sanitation, hygiene, and waste management for SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19.*
- WHO (World Health Organization), (2020).** *Water, Sanitation, Hygiene, and Waste Management for the COVID-19 Virus: Interim Guidance.*
- Wigginton, K.R., Ye, Y. & Ellenberg, R.M. (2015).** Emerging investigators series: the source and fate of pandemic viruses in the urban water cycle. *Environmental Science: Water Research & Technology*, **1**(6), 735-746. DOI: [10.1039/C5EW00125K](https://doi.org/10.1039/C5EW00125K).
- Xu, Y., Li, X., Zhu, B., Liang, H., Fang C., Gong, Y., Guo, Q., Sun, X., Zhao, D., Shen, J., Zhang, H., Liu, H., Xia, H., Tang, J., Zhang, K. & Gong, S. (2020).** Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat. Med.* **26**, 502-505. DOI: [10.1038/s41591-020-0817-4](https://doi.org/10.1038/s41591-020-0817-4)
- Yang, Z., Li, G., Dai, X., Liu, G., Li, G. & Jie, Y. (2020).** Three cases of novel coronavirus pneumonia with viral nucleic acids still positive in stool after throat swab detection turned negative. *Chinese Journal of Digestive Diseases*, **40**, (in Chinese).
- Young, B.E., Ong, S.W.X., Kalimuddin, S., Low, J.G., Tan, S.Y., Loh, J., Ng, O.T, Marimuthu, K., Ang, L.W., Mak, T.M., Lau, S.K., Anderson, D.E., Chan, K.S., Tan, T.Y., Ng, T.Y., Cui, L., Said, Z., Kurupatham, L., Chen, M.I.C., Chan, M., Vasoo, S., Wang, L.F., Tan, B.H., Lin, R.T.P., Lee, V.J.M., Leo, Y.S. & Chien Lye, D.C. (2020).** Epidemiologic features and clinical course of patients infected with SARS-CoV-2 in Singapore. *JAMA*, **323**(15), 1488-1494. DOI: [10.1001/jama.2020.3204](https://doi.org/10.1001/jama.2020.3204)
- Zhang, J.C., Wang, S.B. & Xue, Y.D. (2020).** Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus-infected pneumonia. *Journal of Medical Virology*. DOI: [10.1002/jmv.25742](https://doi.org/10.1002/jmv.25742).
- Zhang, W., Du, R.H., Li, B., Zheng, X.S., Yang, X.L., Hu, B., Wang, Y.Y., Xiao, G.F., Yan, B., Shi, Z.L. & Zhou, P. (2020).** Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerging Microbes & Infections*, **9**, 386-389.
- Zhou, J., Li, C., Zhao, G., Chu, H., Wang, D., Yan, H.H.N., Poon, V.K.M., Wen, L., Wong, B.H.Y., Zhao, X., Chiu, M.C., Yang, D., Wang, Y., Au-Yeung, R.K. H., Chan, I. H.Y., Sun, S., Chan, J.F.W., To, K.K.W., Memish, Z.A., Corman, V.M., Drosten, C., Hung, I.F.N., Zhou, Y., Leung, S.Y. & Yuen, K.Y. (2017).** Human intestinal tract serves as an alternative infection route for Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Science Advances*, **3**. DOI: [10.1126/sciadv.aao4966](https://doi.org/10.1126/sciadv.aao4966).



Effects of Whey Protein on Biochemical Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Mikail ÖZCAN^{1*} Ünal İSPİR² Ayşegül ŞAHİN³

^{1*}Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Agriculture Faculty, Department of Fisheries, Kahramanmaraş, Turkey

²Malatya Turgut Ozal University, Doğanşehir Vahap Küçük Vocational School, Department of Aquaculture, Malatya, Turkey

³Elazığ Directorate Fisheries Research Station, Elazığ-Turkey

Geliş/Received: 20.11.2020

Kabul/Accepted: 17.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Özcan, M., İspir, Ü. & Şahin, A. (2021). Effects of Whey Protein on Biochemical Composition of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 170-173.

Atf yapmak için: Özcan, M., İspir, Ü. & Şahin, A. (2021). Gökkuşluğu Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) Biyokimyasal Bileşimi Üzerine Peynir Alt Suyu Proteinin Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 170-173.

<https://orcid.org/0000-0001-9032-0697>
 <https://orcid.org/0000-0002-2077-0219>
 <https://orcid.org/0000-0002-6609-2687>

*Corresponding author's:
Mikail ÖZCAN
Kahramanmaraş Sütçü İmam University,
Agriculture Faculty, Department of Fisheries,
Kahramanmaraş, Turkey
✉: mikailozcan@ksu.edu.tr

Abstract: The aim of this study was to investigate the impact of whey protein on several biochemical parameters in the tissues of rainbow trout. The fish utilized in this study were an average weight of 40-45 g. Rainbow trout were fed diets containing four doses of whey protein (0; 0.5, 1.0 and 1.5%) for 42 days. At the end experiment, spleen, a liver, muscle and kidney tissue was taken from fish and carbohydrate, lipid and protein levels were determined. The value of this parameters (total protein, total lipid and carbohydrate) was essentially affected for fish fed the diet with 1.0% and 1.5% included whey protein. Carbohydrate level in the all tissues was not affected by dietary levels of whey protein. Lipid levels of fish fed diets with 1.5% added whey protein was essentially higher than that of fish fed the control diet. The use of alternative protein sources such as whey protein can be an option.

Keywords: Carbohydrate content, lipid level, protein, rainbow trout, whey protein.

Gökkuşluğu Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) Biyokimyasal Bileşimi Üzerine Peynir Alt Suyu Proteinin Etkileri

*Sorumlu yazar:
Mikail ÖZCAN
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi,
Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü,
Kahramanmaraş, Türkiye
✉: mikailozcan@ksu.edu.tr

Öz: Bu çalışmanın amacı bazı biyokimyasal yöntemler kullanılarak Gökkuşluğu Alabalığı dokularına peynir alt suyu proteinin etkisi incelenmiştir. Çalışmada ortalama ağırlıkları 40-45 gr olan balıklar kullanılmıştır. Gökkuşluğu alabalığı, 42 gün boyunca dört doz peynir alt suyu protein (%0; 0, 5, 1,0 ve 1,5) içeren yemle beslenmiştir. Deney sonunda balıklardan karaciğer, dalak, böbrek ve kas dokuları alınarak protein, karbonhidrat ve lipid seviyeleri belirlenmiştir. Bu parametrelerin (total protein, total lipid ve total karbonhidrat) değeri, %1,0 ve %1,5 peynir alt suyu protein eklenen yemlerle beslenen balıklarda önemli ölçüde etkilenmiştir. Tüm dokulardaki karbonhidrat seviyesi, yemdeki peynir alt suyu protein oranlarında etkilenmemiştir. %1,5 peynir alt suyu protein oranı içeren yemlerle beslenen balıkların lipid seviyeleri, kontrol yemiyle beslenen balıklara göre önemli ölçüde artmıştır. Peynir alt suyu protein gibi alternative protein kaynaklarının kullanılması için bir seçenek olabilir.

Anahtar kelimeler: Gökkuşluğu alabalığı, karbonhidrat içeriği, lipid seviyesi, protein, peynir alt suyu proteini.

INTRODUCTION

Production of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) has become the largest aquaculture enterprise in the Turkey (Doğan, 2010). In rainbow trout farming, protein is an expensive ingredient in fish feeds and constitutes the important cost of the feed. Fish breeders have tried to reduce the cost of feed by using cheap vegetable proteins instead of expensive animal proteins (Rana et al., 2009).

Whey is spin-off casein, cheese and quark manufacture (Maswaure & Mandisodza, 1995; De Wit, 1998). Whey is obtained from the sedimentation of casein in milk or skimmed milk followed by mechanical segregation from fat and casein (Codex Alimentarius, 2006). It contains most of the minerals, lactose and consists up to 96% of water, and water-soluble protein, which are left from casein processing, quark or cheese (Cinq-Mars et al., 1986). The protein parts of whey occur of nearly at a ratio of 70:28, lacto-albumin and lacto-globulin (Mahan, 1992; De Wit, 1998). Lacto-albumin is harder denaturated during the drying process than lacto-globulin. For this reason, it is usually considered to be a protein component with a superior biological value (Mahan, 1992).

Whey protein contains a large number of essential amino acids and takes charge an significant role in protein synthesis, and carbohydrate metabolism necessary to provide energy (Yoshizawa, 2004). On the biochemical parameters of fish are effective various factors, out of which the species, age, environmental condition, nutrition and maturation are very important (Campbell, 2004). Absorption ratio of amino acids from the intestine from whey protein or casein based diets affects the protein synthesis within the oxidation of amino acids and whole body protein catabolism (Boirie et al., 1997). There was no published report on biochemical effect of whey protein on rainbow trout. Based on the observations from literature survey, it was envisaged to study the various biochemical effect of the ethanol extract of whey protein in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*.

MATERIAL AND METHOD

Rainbow trout (45±0.03 g) was supplied from a commercial fish farm (Kahramanmaraş- Turkey). The fish were kept in a 225 L fiberglass tank. Prior to each experiment the fish were transferred tank containing aerated well water and acclimatized for a minimum for 2 weeks. Fish use and experimental protocol were approved by KSÜZİRHADYEK Animal Ethics Committee (Protocol number: 2017/01).

Fish were fed daily at 2% of fish weight with a commercial fish food (40% protein, 11% fat, 10.1% crude ash, 1.3% crude fiber, 2.4% calcium, 1.5%

phosphorus, 0.3% sodium, 0.6 NM granular fry feed containing).

Whey was prepared from cow milk acquired from a market in Kahramanmaraş, Turkey, using rennet coagulation according to the method of Ha et al. (2014), as described in Kishawy et al. (2018). The whey was used to prepare whey protein concentrates, according to Nishanthi et al. (2017).

Fish were stocked in 4 groups (50 fish/per group) in the tanks. Light/dark cycle was 12L:12D. During the experiment, pH, average dissolved oxygen and water temperature were 7.8±0.09, 8.5±0.14 ppm and 12 ±0.22 °C, respectively.

After two weeks of acclimation to the condition, to study the biochemical mechanisms, fish were allocated into four tanks (50 fish/tank) and fed diets containing three doses of whey protein (0; 0.5, 1.0 and 1.5 %). Also control group only was feed with a commercial feed. Fish were fed to apparent satiation twice daily (between 08:00-09:00 and 16:00-17:00) for 42 days.

The experiment was conducted in two replications. This study were used total of 400 fish with 50 fish in each group. After the test period, the fish were anesthetized with an anesthetic substance (50 mg/L, benzocaine) (Hseu et al., 1998) and the whole body was kept in aluminum foils at -20 °C until biochemical processes were performed.

The total protein, total fat, and carbohydrate percent of fish tissues (liver, spleen, kidney and muscle) were measured using standard methods of Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1990).

Parametric tests were used to reveal the differences between groups. Differences between mean values were compared using one-way analysis of variance (ANOVA) and Duncan tests. All data are given as mean ± standard error.

RESULTS AND DISCUSSION

This study was determine the effective concentrations of whey protein (0; 0.5, 1.0 and 1.5 %) on some biochemical parameters in muscle, liver, kidney and spleen of rainbow trout (Table 1).

Changes in protein levels in tissues of rainbow trout are shown in Fig. 1. Protein concentration of increased with increasing concentrations of dietary. In present study, total protein levels was higher according to control group in the 1.0 and 1.5% whey protein group (P<0.05).

Muscle total lipid content was significantly higher in fish fed the diet with 1.5% of whey protein than those of the other experimental groups. No significant differences were observed among the values for fish fed dietary whey

protein levels of 0.5%. Liver lipid content was highest in fish fed the 1.5% whey protein supplemented diet (Fig. 2).

Table 1. Effect whey protein on total protein, lipid and carbohydrate content of rainbow trout.

Sample	Groups	Total Protein (mg/g)	Total Lipid (mg/g)	Total Carbohydrate (µg/g)
Muscle	Control	11.2±0.13	88±0.3	8.29±0.8
	0.50%	10.98±0.14	86±0.17	7.99±0.11
	1.00%	12.09±0.17	91±0.11	9.12±0.15
	1.50%	12.79±0.22	71±0.7	10.06±0.45
Liver	Control	18.4±0.11	31.56±0.33	191.03±0.52
	0.50%	18.6±0.9 ^a	33.28±0.25	178.42±0.37
	1.00%	19.79±0.7 ^b	33.48±0.22	197.13±0.26
	1.50%	20.45±0.1	32.89±0.29	200.01±0.34
Kidney	Control	9.72±0.12	16.88±0.18	12.18±0.15
	0.50%	9.98±0.8 ^c	16±0.3	11.28±0.5
	1.00%	10.51±0.6 ^d	16.25±0.44	12.57±0.64
	1.50%	11.28±0.3	16.5±0.46	12.41±0.21
Spleen	Control	8.8±0.14	19.5±0.20	9.19±0.27
	0.50%	8.6±0.18	19.25±0.37	8.92±0.41
	1.00%	8.79±0.10	20.12±0.14	9.93±0.22
	1.50%	9.19±0.13	18.88±0.33	11.03±0.41

Dietary treatments did not significantly affect carbohydrate values of all tissues (Fig. 3). The carbohydrate levels at low concentration were decreased from that in the control group (P>0.05). In experiment, when the addition of whey protein supplements to diets was increased to 1.0 and 1.5%, carbohydrate level of fish was slightly, but not significantly (P>0.05), higher than those fish with the 0.5% levels of whey protein or the control diet.

In studies conducted in Motalebi & Seyfzadeh (2011), was to investigate the effects of whey protein coating on the quality of common Kilka fish during frozen storage. As a result of the research, protein content showed an increase in covered samples compared with the control sample. In present study, changes in protein levels in tissues of rainbow trout are shown in Figure 1. Protein concentration of increased with increasing concentrations of dietary. Total protein levels was higher according to control group in the 1.0 and 1.5% whey protein group (P<0.05). This may be due to the impact of a few protein compounds such as β-lactoglobine and α-lactalbumine of this film (Shahidi & Botta, 1990).

Concentration of lipid showed an increase in the covered samples compared with the control group (Motalebi & Seyfzadeh, 2011). In this study, muscle total lipid content was importantly higher in fish fed the diet with 1.5% of whey protein than those of the other experimental groups. No important dissimilarity were observed between the values for fish fed dietary whey protein levels of 0.5%. Liver lipid content was highest in fish fed the 1.5% whey protein supplemented diet (Figure 2). That is because of the presence of glycerides of milk lipid, lipo-proteins and phospho-lipids in whey protein. Oxidation of the lipid arising from the reaction of lipid with oxygen and its hydrolysis are affected by the activity of lipolytic enzymes (Deis, 2006; Min et al., 2006).

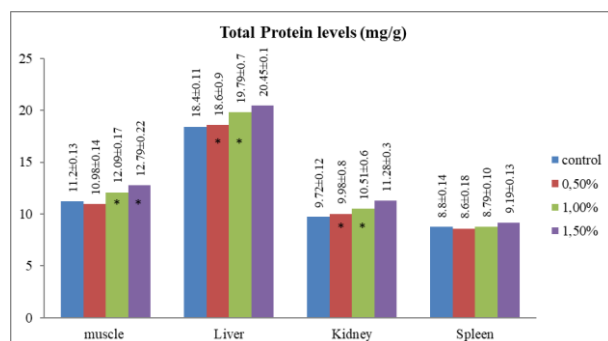


Figure 1. Total protein levels (mg/g) in the several tissues of rainbow trout.

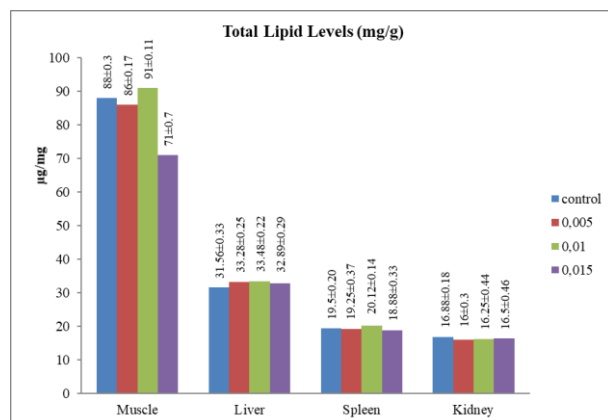


Figure 2. Total lipid levels (mg/g) in the several tissues of rainbow trout.

Carbohydrate used the most easily by fish is glucose and the only sugar in the blood. With the breakdown of glucose, the energy needed to maintain vital activities is provided (Hoşşu et al., 2001). Dietary treatments did not significantly affect carbohydrate values of all tissues (Figure 3). The carbohydrate levels at low concentration were decreased from that in the control group (P>0.05). In experiment, when the addition of whey protein supplements to diets was increased to 1.0 and 1.5%, carbohydrate level of fish was slightly, but not significantly (P>0.05), higher than those fish with the 0.5% levels of whey protein or the control diet. Blood glucose is stored as glycogen in the liver of fish, and when the organism needs it, it is converted into glucose and given to the blood (Girgin Basusta, 2005).

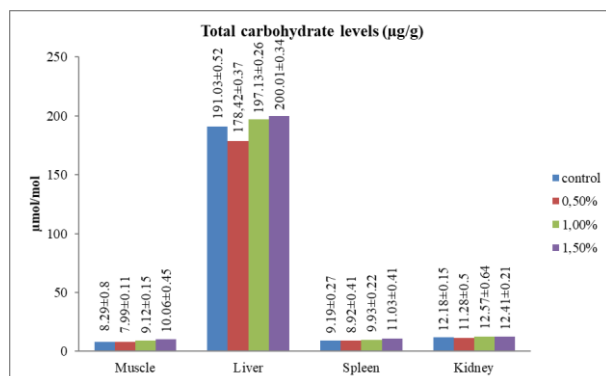


Figure 3. Carbohydrate levels (µg/g) in the several tissues of rainbow trout.

CONCLUSION

The use of alternative protein sources such as whey protein can be an option. However, the level of anti nutritional factors has to be watched carefully. To prevent or reduce problems in fish, it is recommended to use feed with a low level of digestible protein. Results from the present study clearly demonstrated that a diet having 1.5% protein supplemented was found to be the optimum for positive effect biochemical parameters of rainbow trout. Further studies examining the mechanisms underlying the impacts of whey protein are needed. The information of this study will shed light on new researches in the future and contribute to the scientific literature.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was presented as a oral presentation at the International Symposium on Fisheries and Aquatic Science (FABA), 03 and 05 November 2016 in Antalya, Turkey.

ETHICAL APPROVAL

All animal studies were approved by the Animal Ethics Committee of Kahramanmaraş Sütçü İmam University, Faculty of Agriculture (KSÜZİRHADYEK) and Research Institute (Protocol number: 2017/01).

REFERENCES

- AOAC. (1990). Official methods of analysis of the AOAC, 15th ed. Methods 932.06, 925.09, 985.29, 923.03. Association of official analytical chemists. Arlington, VA, USA.
- Boirie, Y., Dangin, M., Gachon, P., Vasson, M.P., Maubois, J.L. & Beaufre, B. (1997). Slow and fast dietary proteins differently modulate postprandial protein accretion. *Proclamations of National Academy of Sciences*, **94**, 14930-14935.
- Campbell, T.W. (2004). *Hematology of fish*. In: Troy DB (ed) Veterinary hematology and clinical chemistry. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore.
- Cinq-Mars, D., Belanger, G., Lachance, B. & Brisson, G.J. (1986). Performance of early weaned piglets fed diets containing various amounts of whey protein concentrate. *Journal of Animal Science*, **63**(1), 145-150. DOI: 10.2527/jas1986.631145x
- Codex Alimentarius. (2006). *Standard for whey powders*. Agriculture Organization of United Nations, Rome, Italy.
- De Wit, J.N. (1998). Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products. *Journal of Dairy Science*, **81**, 597-608. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(98)75613-9
- Deis, R.C. (2006). The complexity of shelf life stability, 1 st. USA: Virgo pub.
- Doğan, K. (2010). Turkey's Aquaculture Sector. *Proc. of the 3rd Global Fisheries & Aquaculture Research Conference*. Foreign Agricultural Relations (FAR), Egypt.
- Girgin Basusta, A. (2005). *Balık biyolojisi araştırma yöntemleri*. Nobel Yayın, Ankara, 772 498.
- Ha, M., Bekhit, A.E.D., McConnell, M., Mason, S. & Carne, A. (2014). Fractionation of whey proteins from red deer (*Cervus elaphus*) milk and comparison with whey proteins from cow, sheep and goat milks. *Small Ruminant Research*, **120**, 125-134. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2014.04.012
- Hoşsu, B., Korkut, A.Y. & Fırat, A. (2001). *Balık Besleme ve Yem Teknolojisi I*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:50. Basımevi, Bornova, İzmir, 276s.
- Hseu, J., Yeh, S., Chu, Y. & Ting, Y. (1998). Comparison of efficacy of five anesthetics in Goldlined sea bream, *Sparus sabra*. *Acta Zoologica Taiwanica*, **9**(1), 35-41.
- Kishawy, A.T., Amer, S.A., Osman, A., Elsayed, S.A., El-Hack, M.E.A., Swelum, A.A., Ba-Awadh, H. & Saadeldin, I.M. (2018). Impacts of supplementing growing rabbit diets with whey powder and citric acid on growth performance, nutrient digestibility, meat and bone analysis, and gut health. *AMB Express*, **8**, 86. DOI: 10.1186/s13568-018-0617-0
- Mahan, D.C. (1992). Efficacy of dried whey and its lactalbumin and lactose components at two dietary lysine levels on post weaning pig performance and nitrogen balance. *Journal of Animal Science*, **70**(7), 2182-2187. DOI: 10.2527/1992.7072182x
- Maswaure, S.M. & Mandisodza, K.T. (1995). An evaluation of the performance of weaner pigs fed diets incorporating fresh sweet liquid whey. *Animal Feed Science and Technology*, **54**, 193-201. DOI: 10.1016/0377-8401(95)00775-1
- Min, S., Rumsey, T.R. & Krochta, J. (2006). Lysozyme diffusion in smoked salmon coated with whey protein films in corporation lysozyme, CDRF.
- Motalebi, A.A. & Seyfzadeh, M. (2011). Effects of whey protein edible coating on bacterial, chemical and sensory characteristics of frozen common Kilka (*Clupeonelladelitula*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, **11**(1), 132-144.
- Nishanthi, M., Chandrapala, J. & Vasiljevic, T. (2017). Compositional and structural properties of whey proteins of sweet, acid and salty whey concentrates and their respective spray dried powders. *International Dairy Journal*, **74**, 49-56. DOI: 10.1016/j.idairyj.2017.01.002
- Rana, K.J., Siriwardena, S. & Hasan, M.R. (2009). Impact of rising feed ingredient prices on aquafeeds and aquaculture production. *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper*. No. 541. Rome, FAO.
- Shahidi, F. & Botta, J.R. (1994). *Seafood's, chemistry, processing technology and quality*. Chapman & Hall London.
- Yoshizawa, F. (2004). Regulation of protein synthesis by branched-chain amino acids in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **313**(2), 417-422. DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.07.013



Bakırın Tilapia'nın (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Kas Dokusunda Birikimi ve İyon Düzeyleri Üzerine Etkiler^[*]

Hikmet Yeter ÇOĞUN^{1*} Ferit KARGIN²

¹Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner Fakültesi Ceyhan, Adana, Türkiye
²Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş Tarihi: 01.02.2021

Kabul Tarihi: 13.04.2021

Basım Tarihi: 30.06.2021

Atıf yapmak için: Çoğun, H.K. & Kargin, F. (2021). Bakırın Tilapia'nın (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) Kas Dokusunda Birikimi ve İyon Düzeyleri Üzerine Etkiler. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 174-179.

How to cite: Çoğun, H.K. & Kargin, F. (2021). The Effects of Copper on Ion Levels and Accumulation in Muscle Tissues of Tilapia (*Oreochromis Niloticus* Linnaeus, 1758). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 174-179.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6559-4397>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4315-5689>

***Sorumlu yazarın:**

Hikmet Yeter ÇOĞUN
Çukurova Üniversitesi, Ceyhan Veteriner
Fakültesi Ceyhan, Adana, Türkiye.
✉: hcogun@cu.edu.tr

Öz: Çalışmamızda bakırın farklı ortam derişimlerinde (0.1, 0.5, 1.0 ve 5.0 mg/L) *Oreochromis niloticus*'un kas dokusunda bakır ve iyon parametrelerinin düzeyleri (Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ ve Mg⁺⁺) 10, 20 ve 30 günlük sürelerle araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla balık kas dokusundaki bakır iyon düzeyleri Atomik Absorpsiyon Spektrometrik (AAS) yöntemle belirlenmiştir. Yapılan çalışmada *O. niloticus* kas dokusunda bakır birikimi tüm ortam derişimlerinde ve etkide kalma süresinin uzamasıyla arttığı saptanmıştır. *O. niloticus* kas dokusunda bakır etkisinde iyon düzeyleri incelendiğinde, denenen ortam derişimlerinde ve sürelerinde sodyum düzeyinde herhangi bir değişim olmazken, magnezyum düzeyinde bir artışa, potasyum ve kalsiyum düzeylerinde ise bir azalmaya neden olmuştur.

Anahtar kelimeler: Bakır, birikim, iyon, kas dokusu, *Oreochromis niloticus*.

The Effects of Copper on Ion Levels and Accumulation in Muscle Tissues of Tilapia (*Oreochromis Niloticus* Linnaeus, 1758)

Abstract: In our study, it was aimed to investigate the levels of copper and ion parameters (Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺ and Mg⁺⁺) in the muscle tissue of *Oreochromis niloticus* at different copper medium concentrations (0.1, 0.5, 1.0 and 5.0 mg / L) for 10, 20 and 30 days. For this purpose, copper levels and ion levels in fish muscle tissue were determined by Atomic Absorption Spectrometric (AAS) method. In the study, it was determined that copper accumulation in *O. niloticus* muscle tissue increased at all ambient concentrations and with prolonged exposure time. When the ion levels under the influence of copper in *O. niloticus* muscle tissue were examined, there was no change in sodium level in the tested environment concentrations and durations, while it caused an increase in magnesium level and a decrease in potassium and calcium levels.

***Corresponding author's:**

Hikmet Yeter ÇOĞUN
Çukurova University, Ceyhan Veterinary
Faculty Ceyhan, Adana, Turkey.
✉: hcogun@cu.edu.tr

Keywords: Accumulation, copper, ion, muscle tissue, *Oreochromis niloticus*.

GİRİŞ

Çevre kirleticisi olarak son yıllarda dikkat çeken ağır metaller endüstride yoğun bir şekilde kullanımı

sunucu su ortamında düzeyleri giderek artmakta ve ciddi risk olarak kendini göstermektedir. Bu riskler sadece karasal ortamda değil sucul ortamlarda da kendini göstermektedir. Ağır metallerin canlıya olan toksik etkisi

[*] Bu araştırma Doktora çalışmasından üretilmiştir.

This study was produced from the doctoral thesis.

enzimin aktif bölgesine, molekül üzerinde aktif olmayan bölgeye bağlantı yapmak ve proteinlerin imidazol, amino, sülfidril ve karboksil guruplarına bağlanarak yaptıkları belirtilmiştir (Murphy & Spiegel., 1983; Viarengo, 1985; Çoğun & Kargin 2020).

Tüm hücrelerde pikomolar düzeyde bulunan bakır bir iz elementi olarak sınıflandırılmaktadır. Bakır tüm canlılar için gerekli bir element olup, yaklaşık 30 enzimin kofaktör olarak bakırı kullandığı belirlenmiştir (Arellano vd., 1999). Kentsel ve endüstriyel gelişimin bir sonucu olarak yaygın bir şekilde kullanılan bakır su ortamının kirlenmesine ve dolayısıyla organizmalarda birçok hasarlara neden olmaktadır (Munoz vd., 1991). Bakırın subletal derişimleri balıklarda büyüme, gelişme ve üreme üzerine olumsuz etkiler yaptığı bir çok araştırmacı tarafından belirtilmiştir (Buckley vd., 1982; Hilmy vd., 1985).

Balıkların dokularında ağır metallerin birikimi, metalin alınımlı şekline, derişimine ve etki süresine bağlı olarak değişim göstermektedir. Metallerin toksik etkileri ve birikimleri dokuların işlevsel ve fizyolojik durumlarına bağlı olarak değişim göstermektedir (Campana vd., 2003).

Akuatik organizmalarda ağır metallerin subletal etkilerinin hızlı ve doğru bir şekilde belirlenebilmesi için balıkların, bu metallerle karşı fizyolojik ve biyokimyasal tepkilerinin araştırılması gerekmektedir (Campana vd., 2003). Canlı organizmalarda iyonlar, protein ve lipid gibi birçok birleşiklerin yapılarında bulunurlar, enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak görev alırlar ve asit-baz dengesini sağlarlar. Ağır metaller hücre zarının geçirgenliğini değiştirmesi, birçok enzimatik reaksiyonda değişikliklere neden olması ve yaşamsal öneme sahip inorganik katyonların düzeylerini değiştirmesiyle iyon dengesini bozmaktadır (Viarengo, 1985; Suresh vd., 1995). Ağır metaller kemikli balıkların osmoregülatör sistemlerinde iyon taşınmasını baskı altında tutmakta (Olson vd., 1973; Thaker vd., 1996) ve bunun sonucu çeşitli organlarda yapısal hasarlar oluşturmaktadır. Organizmalarda ağır metaller ile Na^+ , K^+ , Ca^{++} ve Mg^{++} gibi iyonların derişimleri arasında sıkı bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Astorga-Espana vd., 1999; Çoğun, 2008).

Bu çalışmada; 10, 20 ve 30 günlük sürelerle bakırın farklı derişimlerine bırakılan *O. niloticus* kas dokularında bakır birikimi ve kas dokusunda iyon düzeyleri üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Araştırmamızda *Oreochromis niloticus* balıkları Çukurova üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınmış ve iki ay süre ile 40X120X40 cm boyutlarındaki beş (5) stok akvaryum içerisinde laboratuvar koşullarına adaptasyonları sağlanmıştır. Balıklar bu sürenin sonunda 14.72 ± 0.44 cm boy ve 37.87

± 1.19 g ağırlığa ulaşmışlardır. Deneyler 20 ± 1 °C sıcaklıkta yürütülmüş, akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmış ve günde sekiz saat aydınlanma (8 saat gündüz / 16 saat gece) periyodu uygulanmıştır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlığının % 1'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir.

Deneyler, 10, 20 ve 30 gün sürelerde bakırın 0.1, 0.5, 1.0 ve 5.0 mg/L ortam derişimlerine bırakılmıştır. Deneylerde 40X120X40 cm. boyutlarında olan içerisinde 18 balık bulunan 5 cam akvaryum kullanılmıştır. Bu akvaryumlardan her birine 120'şer litre olacak şekilde su ve ilk dört akvaryuma 0.1, 0.5, 1.0 ve 5.0 mg/L bakır çözeltileri, son beşinci akvaryuma ise kontrol balıkları konulmuştur. Deneyler üç tekrarlı olarak yürütülmüştür ve her tekrarda iki balık kullanılmıştır.

Deney süresince ortam suyunun bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri toplam sertlik 268.81 ± 0.29 ppm $CaCO_3$, pH 8.42 ± 0.02 ve çözünmüş oksijen 7.21 ± 0.09 mg/L olarak ölçülmüştür.

Kullanılan bakır $CuCl_2 \cdot 2 H_2O$ (Merck) olup deney boyunca çözeltilinin akvaryumda homojen dağılması ve çökelmeyi önlemek için tri-sodyum sitratla ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ Merck) birlikte çözeltiler de iyonize su ile taze hazırlanmıştır. Bu hazırlanan çözeltiden uygun derişimler uygun seyreltmelerle akvaryumlara iki güne bir uygulanmıştır.

Her deney süresi bitiminde balıklar alınmış ve daha sonra çeşme suyu ile iyice yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile yüzeylerinde bulunan su damlacıkları alınmıştır. Balıkların kas dokularının diseksiyonu yapılmıştır. Daha sonra kas dokusu etüvde $150^\circ C$ 'de 48 saat süreyle kurumaya bırakılmışlardır. Kuru ağırlıkları belirlenen kas dokusu deney tüplerine aktararak üzerlerine 2 mL. nitrik asit (Merck, % 65, Ö. A. : 1.40) ve 1 mL. perklorik asit (Merck, % 60, Ö. A. : 1.53) eklenmiş (Muramoto, 1983) ve çeker ocakta $120^\circ C$ 'de 3 saat süreyle yakılmıştır. Yakımı tamamlanan örnekler polietilen tüplere aktarılmış ve üzerleri deiyonize su ile 5 mL' ye tamamlanarak iyon analizine hazır hale getirilmiştir. Na^+ , K^+ , Mg^+ ve Ca^+ iyon düzeyleri kas dokusu kuru ağırlığına bağlı olarak bu örneklerden uygun seyreltmeler yapıldıktan sonra belirlenmiştir. Kas dokusundaki bakır birikimi ve iyon analizleri Perkin Elmer AS 3100 Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrik yöntemlerle saptanmıştır.

Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri “ Regresyon analizi” ve “ Student-Newman Keul's Test (SNK)” testleri uygulanarak yapılmıştır

BULGULAR

Bakır ortam derişimleri etkisinde *O. niloticus* balık kas dokusunda bakır birikim düzeyleri Çizelge 1 de,

kas dokusu Na⁺, K⁺, Ca⁺ ve Mg⁺ iyon düzeyleri Şekil 1-4’de verilmiştir.

Kas dokusunda ortamda bulunan bakır derişimi arttıkça bakır birikiminde de önemli düzeylerde artma gözlenmiş ve bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 1; SNK, P<0.01). 10. güne oranla 30 günlük süre sonunda tüm ortam derişimlerinde bakır düzeyleri artmış ve bu artış istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır.

O. niloticus’un 10, 20 ve 30 gün süre sonunda kas dokusu sodyum düzeyi üzerine bakır derişimlerinin etkisi Şekil 1’de verilmiştir. Denenen tüm sürelerde artan bakır derişimlerinin *O. niloticus*’un kas dokusundaki sodyum düzeylerine etkisi istatistik olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir. (Şekil 1; SNK, P>0.01). 30. günde *O. niloticus*’un kas dokularında 0.1 mg ortam derişimi etkisinde sodyum düzeyinde bir azalmanın olduğu gözlenmiştir.

Tablo 1. *O. niloticus* ‘da farklı ortam derişimlerinde ve etkide kalınan sürelerde kas dokusu bakır birikimi (µg Cu/g k.a.).
Table 1. Copper accumulation of muscle tissue at different media concentrations and periods in *O. niloticus* (µg Cu / g k.a.).

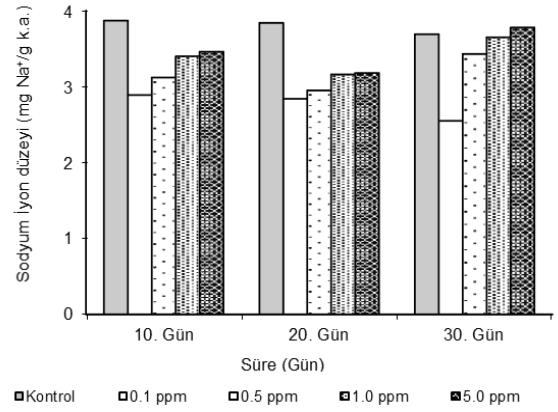
Süre (Gün)	DERİŞİM (mg Cu.L ⁻¹)				
	0.0	0.1	0.5	1.0	5.0
	$\bar{X} \pm s\bar{x}^*$	$\bar{X} \pm s\bar{x}^*$	$\bar{X} \pm s\bar{x}^*$	$\bar{X} \pm s\bar{x}^*$	$\bar{X} \pm s\bar{x}^*$
10	0.56±0.04 ^{ab}	3.42±0.22 ^{ab}	5.25±0.24 ^{bc}	8.71±0.51 ^{cd}	9.59±0.55 ^{cd}
20	0.56±0.07 ^{ab}	5.65±0.36 ^b	8.04±0.52 ^{bc}	9.51±0.29 ^{cd}	10.26±0.10 ^{cd}
30	0.57±0.04 ^{ab}	5.04±0.50 ^b	8.30±0.32 ^{bc}	10.17±0.17 ^{cd}	12.27±0.30 ^{cd}

*: a, b, c,d ve e harfleri derişimleri belirlemek; x ve y harfleri günler arası ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayrım vardır (P<0.01).
 $\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

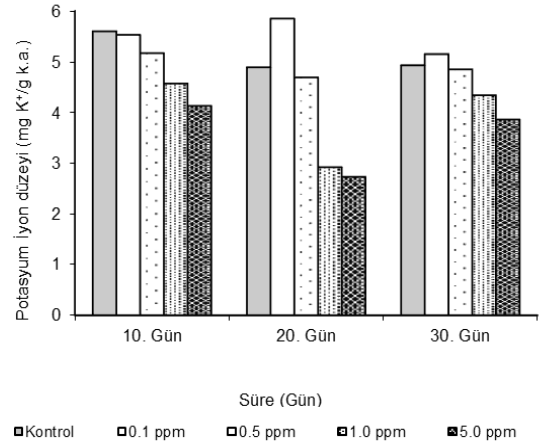
Denenen her üç süre sonunda potasyum düzeylerine bakır derişimlerinin etkisi Şekil 2 ‘de verilmiştir. 10. günde denenen ortam derişimleri kas dokusunda potasyum düzeyine etkisi önemsizdir. 20 ve 30 günlük sürelerde yüksek bakır ortam derişimlerinde kas dokusu potasyum düzeylerinde azalma gözlenmiştir.

Kas dokusu kalsiyum düzeyleri Şekil 3’de verilmiştir. Bakırın düşük derişimleri hariç denenen diğer ortam derişimlerinde kas dokusunda kalsiyum düzeyi tüm sürelerde azaldığı gözlenmiştir. Bu azalma yüksek ortam derişimlerinde istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır.

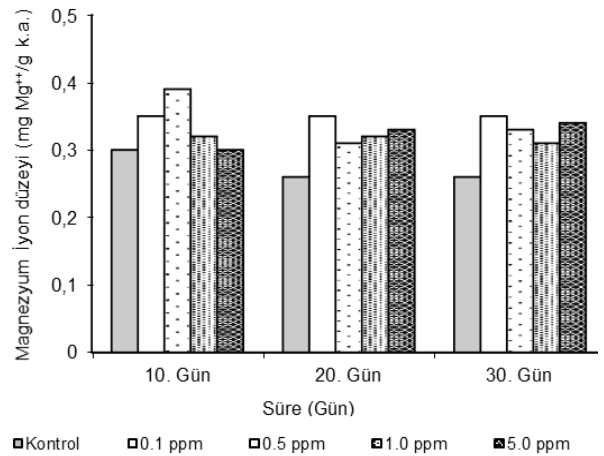
O. niloticu’un kas dokusunda magnezyum düzeyi üzerine bakır ortam derişimlerinin etkisi Şekil 4’de verilmiştir. 10 ve 20 gün süre sonunda kas dokusu magnezyum düzeyine bakır ortam derişimlerinin etkisi önemsizdir ve kas dokusu magnezyum düzeylerinde kontrole göre bir istatistiksel ayrım saptanmamıştır (Şekil 4; SNK, P>0.01). 30. gün sonunda ise *O. niloticus* kas dokularında magnezyum düzeyi kontrole göre artmış ve bu artış istatistiksel olarak önemlidir.



Şekil 1. *O. niloticus* ‘da bakırın kas dokusu sodyum düzeyi üzerine etkisi (mg Na⁺/g k.a.).
Figure 1. The effect of copper on muscle tissue sodium level in *O. niloticus* (mg Na⁺/g k.a.).



Şekil 2. *O. niloticus* ‘da bakırın kas dokusu potasyum düzeyi üzerine etkisi (mg K⁺/g k.a.).
Figure 2. The effect of copper on muscle tissue potassium level in *O. niloticus* (mg K⁺/g k.a.).



Şekil 4. *O. niloticus* ‘da bakırın kas dokusu magnezyum düzeyi üzerine etkisi (mg Mg⁺⁺/g k.a.).
Figure 4. The effect of copper on muscle tissue magnesium level in *O. niloticus* (mg Mg⁺⁺/g k.a.).

TARTIŞMA

Çalışmamızda denenen tüm süre ve ortam bakır derişimlerinde ölüm gözlenmemiştir. Sucul organizmalarda stres ortamında besin alınımının azaldığı saptanmıştır. Buckley vd., (1982) *Oncorhynchus kisutch* ile yaptığı bir araştırmada bakırın yüksek derişimlerinde tutulan balıklarda besin alınımının azaldığı gözlemiştir. Araştırmamızda deney süresince yüksek ortam derişimlerinin etkisinde bulunan balıkların kontrol balıklarına oranla hareketsiz oldukları ve verilen yemleri almadıkları gözlenmiştir.

Ağır metallerin su organizmaları tarafından solunum, besin ve direkt temas yoluyla alınan metaller ya proteinlere bağlanırlar ki bu durumda inaktif halde bulunurlar veya bağlanmazlar yani serbest veya aktif halde bulunurlar (Campana vd., 2003). Ağır metallerin organlardaki birikimleri etkide kalınan süre ve ortam derişimine bağlı olarak değişim göstermektedir. Brung vd., (1973) yaptıkları bir çalışmada *Ictalurus nebulosus*'da dokulardaki bakır birikiminin etkide kalınan süre ve ortam derişimine bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Aynı şekilde *Carassius auratus*'da kurşun birikimiyle ilgili yapılan bir çalışmada ortamdaki kurşun derişiminin artışına paralel olarak dokudaki birikiminde arttığı saptanmıştır (Tao vd., 1999). Bu araştırmada kas dokusunda bakır birikimi süre ve ortam derişiminin artışına bağlı olarak arttığı saptanmıştır. Bunun büyük bir olasılıkla bakır sürekli olarak solungaçlardan alınarak hedef dokuya taşınması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Balıklarda osmolaritenin ve plazmanın osmotik basıncının korunmasından sorumlu mineraller olan Na^+ , K^+ , Ca^{++} ve Cl^- gibi iyonlar birçok fizyolojik olaylar için gereklidir (Stouthart vd., 1995). Balıklar canlılıklarının devamlılığını ve homeostasiyi tam olarak sürdürebilmesi için hücre içi ve hücre dışı arasında iyon derişimindeki dengenin sürekli olarak korunması gerekmektedir. Bunu sağlamak için çeşitli sistemler geliştirilmiştir Bu sistemler içerisinde ATPazlar önemli bir yer tutmaktadır. Na^+ , K^+ -ATPaz sistemi hücre içinde potasyumun, hücre dışında da sodyumun yüksek derişimlerde tutulmasını (Satyavath & Rao, 2000), Na , K -ATPaz ile Ca - Mg ATPaz sistemi solungaçlarda ilgili iyonların aktif taşınmalarını (Sloman vd., 2003), karbonik anhidraz enzimi Na ve Ca iyonlarının taşınmalarını (McGeer vd., 2000) sağlayarak iyon dengesinin korunmasında büyük önem taşırlar. Ağır metaller bu enzimlerin sülfidril gruplarına bağlanarak bu sistemlerin inhibisyonuna neden olabilmektedirler. Bu inhibisyon sonucunda hücre membranlarından iyon geçişleri aksamakta ve iyon dengesi büyük ölçüde bozulmaktadır. Wang vd., (1998) yaptıkları bir araştırmada bakır etkisinde *O. mykiss* balıklarında Na^+ , K^+ -ATP az aktivitesini inhibe etmiş ve hücre içi ve dışı iyon düzeyini

etkilemiştir. Çoğun ve Kargın (2019) yaptıkları bir çalışmada ağır metallerin *O. niloticus* balık iyon düzeylerinde önemli etkileri olduğunu gözlemlemiştir.

Bu araştırmada denenen bakır ortam derişimleri kas dokusu Na^+ düzeyi denenen tüm metal derişiminden etkilenmemiş, sadece 30. gün 0.1 mg/L bakır derişimlerinde kontrole göre bir azalma gözlenmiştir. Pane vd., (2003) yaptıkları bir araştırmada nikel etkisinde kalan *O. mykiss*'de kas dokusu Na^+ düzeyinin kontrol balıklarına göre pek değişmediğini belirlemiştir.

Balıklarda potasyum hücrede klor iyonu ile ilişkili olarak fizyolojik adaptasyonda rol almaktadır. Lauren & McDonald, (1986) *S. gairdneri* ile yapmış olduğu çalışmada ortamdaki bakırın artışı ile vücut K^+ ve Cl^- düzeylerinde azalmaların daha fazla olduğu belirtilmiştir. Civanın etkisine bırakılan *Carcinus means*'da K^+ ve Cl^- düzeylerinde değişiklikler, balığın Na^+/K^+ -ATP az aktivitesinin inhibisyonundan kaynaklandığı belirtilmiştir (Bjerregaard & Vislie, 1985). Çalışmamızda *O. niloticus* kas dokusu K^+ düzeyleri tüm ortam derişimlerinde ve denenen tüm sürelerde azalma gözlenmiştir. Bu azalma bakırın Na^+/K^+ -ATP az sistemlerinin inhibisyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Balıklarda bakır (Shephard & Simkiss, 1978) Ca^{++} -ATP az'ın taşıma görevini engellemesi neden ile doku ve serumda Ca^{++} düzeyinde değişikliklerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu araştırmada denenen yüksek bakır ortam derişimlerinde kas dokusu Ca^{++} düzeyi kontrole göre bir azalma göstermiştir. Araştırmamızda kas dokusu Ca^{++} düzeyinde azalmanın saptanması, bakırın solungaç dokusunda Ca^{++} taşınmasını engellemesinden kaynaklanabilir. *C. means*'da bakır, Ca^{++} -ATP azı direkt engellemesi veya indirekt olarak $\text{Na}^+/\text{Ca}^{++}$ pompasını bozması sonucu aktif Ca^{++} taşınmasını engellemektedir (Bjerregaard & Vislie, 1986).

Magnezyum canlılar için protein sentezi gibi fizyolojik işlevlerde gerekli bir mineraldir. Mg^{++} iyon derişimi hücresel düzeyde membranda bulunan Mg^{++} -ATP az tarafından kontrol edilmekte ve ağır metallerin Mg^{++} -ATP az'ı inhibe etmesi sonucu Mg^{++} düzeyi değişebilmektedir (Flik vd., 1993). Bu araştırmada kas dokusu bakır Mg^{++} düzeylerinde meydana gelen değişimler, Mg^{++} -ATPaz sisteminin inhibisyonu sonucu olabileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen bulgular, *O. niloticus* kas dokusunda bakır birikimi tüm ortam derişimde ve etkide kalma süresinin uzamasıyla arttığı saptanmıştır. *O. niloticus* kas dokusunda bakır etkisinde iyon düzeyleri incelendiğinde, magnezyum düzeylerinde tüm ortam derişim ve etkide kalınan sürelerde arttığı, potasyum ve kalsiyum düzeylerinde ise yüksek bakır ortam derişimlerinde bir azalmaya neden olmuştur. Bu sonuçlar *O. niloticus*'un bakır birikimi ve toksisitesine karşı dirençli

bir tür olduğunu ve osmoregülasyonun iyi olduğunu göstermektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi (BAP) tarafından desteklenmiştir (Proje No: FEF2003D13).

KAYNAKLAR

- Astorga-Espana, M. S., Pena-Mendez, E. M. & Montelongo F. J. (1999).** Application of principal component analysis to the study of major cations and trace metals in fish from Tenerife (Canary Islands), *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **49**, 173-178. DOI: [10.1016/S0169-7439\(99\)00038-6](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(99)00038-6)
- Arellano, J. M., Storch, V. & Sarasquete, C. (1999).** Histological changes and copper accumulation in liver and gills of the senegales Sole, *Solea senegalensis*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **44**, 62-72. DOI: [10.1006/eesa.1999.1801](https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1801)
- Astorga-Espana, M. S., Pena-Mendez, E. M. & Montelongo F. J. (1999).** Application of principal component analysis to the study of major cations and trace metals in fish from Tenerife (Canary Islands), *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **49**, 173-178.
- Bjerregaard, P. & Vislie, T. (1985).** Effect of mercury on ion and osmoregulation in the Shore Crab *Carcinus maenas* (L.), *Comparative Biochemistry & Physiology*, **82C**, (1), 227-230. DOI: [10.1016/0742-8413\(85\)90235-x](https://doi.org/10.1016/0742-8413(85)90235-x)
- Brung, W.A., Leonard, E.N. & Mc Kim. (1973).** Acute and long-term accumulation of copper by the Brown Bullhead, *Ictalurus nebulosus*. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **30**, 583-586. DOI: [10.1139/f73-103](https://doi.org/10.1139/f73-103)
- Buckley, J. T., Roch, M., Mccarter, J. A., Rendell, C. A. & Matherson, A. T. (1982).** Chronic exposure of coho salmon to sublethal concentrations of copper-i. effects of growth, on accumulation and distribution of copper and on copper tolerance. *Comparative Biochemistry & Physiology*, **72C**(1), 15-19. DOI: [10.1016/0306-4492\(82\)90198-8](https://doi.org/10.1016/0306-4492(82)90198-8)
- Campana, O., Sarasquete, C. & Blasco, J. (2003).** Effect of lead on ALA-D activity, metallothionein levels, and lipid peroxidation in blood, kidney, and liver of the Toadfish *Halobatrachus didactylus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. **55**, 116-125. DOI: [10.1016/S0147-6513\(02\)00093-3](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00093-3)
- Çoğun, H. Y. (2008).** *Oreochromis niloticus* ve *Cyprinus carpioda* Bakır ve Kurşun Birikiminin Solungaç, Kas, Karaciğer, Böbrek ve Kan Dokularındaki İyon Dağılımı Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, **173s**
- Çoğun, H.Y. & Kargın, F. (2020).** *Cyprinus carpio*'da Bakırın Solungaç Dokusunda Birikimi ve Na/K İyon Düzeylerine Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **5**(3), 313-317
- Çoğun, H.Y. & Kargın F. (2019).** *Oreochromis niloticus*'un solungaç dokusu iyon düzeyleri üzerine kurşunun etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **4**(1), 22-26. DOI: [10.35229/jaes.527071](https://doi.org/10.35229/jaes.527071)
- Flik, G., Van Der Velden, J. A., Dechering, K. J., Verbost, P. M., Schoenmakers, T. J. M., Klar, Z. I. & Wendelaar Bonga, S. E. (1993).** Ca²⁺ and Mg²⁺ transport in gills and gut of Tilapia; *Oreochromis mossambicus*: A Review. *The Journal of Experimental Zoology* **265**, 356-365. DOI: [10.1002/jez.1402650404](https://doi.org/10.1002/jez.1402650404)
- Hilmy, A. M., Shabana, M. B. & Daabees, A. Y. (1985).** Bioaccumulation of cadmium: toxicity in *Mugil cephalus*. *Comparative Biochemistry & Physiology*, **81C**(1), 139-143.
- Lauren, D.J. & Mc Donald, D.G. (1986).** Influence of water hardness, pH and alkalinity on the mechanisms of copper toxicity in juvenile Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **43**, 1488-1496. DOI: [10.1139/f86-186](https://doi.org/10.1139/f86-186)
- McGeer, J. C., Szebedinszky C., Mcdonald D. G. & Wood C. M. (2000).** Effect of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in Rainbow trout 2: Tissue specific metal accumulation. *Aquatic Toxicology*, **50**, 245-256. DOI: [10.1016/S0166-445X\(99\)00106-X](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(99)00106-X)
- Munoz, M. J., Carballo, M. & Tarazona, J. V. (1991).** The Effect of Sublethal Levels of Copper and Cyanide on Some Biochemical Parameters of Rainbow Trout Along Subacute Explotion. *Comparative Biochemistry & Physiology*, **100C**(3), 577-582. DOI: [10.1016/0742-8413\(91\)90043-S](https://doi.org/10.1016/0742-8413(91)90043-S)
- Muramoto, S. (1983).** Elimination of copper from Cu-contaminated fish by long-term exposure to EDTA and fresh-water, *Journal of Environmental Science and Health*, **A18**(3), 455-461. DOI: [10.1080/10934528309375113](https://doi.org/10.1080/10934528309375113)
- Murphy, C. B. Jr, & Spiegel, S. J. (1983).** Bioaccumulation and toxicity of heavy metals and related trace elements. *Water Pollution*, **55**(6), 816-821.

- Olson, K. R., Bergman, H. L. & Fromn, P. O. (1973).** Uptake of methylmercuric chloride and mercuric chloride by trout: a study of uptake pathways into the whole animal and uptake by erythrocytes in vitro, *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **30**, 1293-1299. DOI: [10.1139/f73-209](https://doi.org/10.1139/f73-209)
- Pane, E. F., Richards. J. G. & Wood, C. M. (2003).** Acute waterborne nickel toxicity in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) occurs by a respiratory rather than ionic regulatory mechanism, *Aquatic Toxicology*, **65**, 65-82. DOI: [10.1016/S0166-445X\(02\)00131-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00131-5)
- Satyavathi, C. & Rao, Y. P. (2000).** Inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase in *Penaeus indicus* postlarvae by lead, *Comparative Biochemistry & Physiology, C*, **127**, 11-22. DOI: [10.1016/S0742-8413\(00\)00130-4](https://doi.org/10.1016/S0742-8413(00)00130-4)
- Shephard, K. & Simkiss, K. (1978).** The effects of heavy metal ions on Ca²⁺ ATPase extracted from fish gills, *Comparative Biochemistry & Physiology*, **61 B**, 69-72. DOI: [10.1016/0305-0491\(78\)90216-X](https://doi.org/10.1016/0305-0491(78)90216-X)
- Sloman, K. A., Morgan, T. P., McDonald, D. G. & Wood, C. M. (2003).** Socially-induced changes in sodium regulation affect the uptake of waterborne copper and silver in the Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Comparative Biochemistry & Physiology C*, **135**, 393-403. DOI: [10.1016/S1532-0456\(03\)00139-X](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(03)00139-X)
- Stouthart, A. J. H. X., Spanings, F. A. T., Lock, R. A. C. & Wendelaar Bonga, S. E. (1995).** Effects of water pH toxicity to early life stages of Common Carp (*Cyprinus carpio*), *Aquatic Toxicology*, **32**, 31-42. DOI: [10.1016/0166-445X\(94\)00079-6](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00079-6)
- Suresh, A., Sivaramakrishna, B. & Radhakrishnaiah, K. (1995).** Cadmium induced changes in ion levels and ATPase activities in the muscle of the fry and fingerlings of the Freshwater Fish, *Cyprinus carpio*, *Chemosphere*, **30**(2), 365-375 DOI: [10.1016/0045-6535\(94\)00403-H](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)00403-H)
- Tao, S., Liu, C., Dawson, R., Cao, J. & Li, B. (1999).** Uptake of particulate lead via the gills of fish (*Carassius auratus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **37**, 352-357. DOI: [10.1007/s002449900524](https://doi.org/10.1007/s002449900524)
- Thaker, J., Chhaya, J., Nuzhat, S., Mittal, R., Mansuri, A. P. & Kundu, R. (1996).** Effects of chromium (VI) on some ion-dependent ATPases in gills, kidney and intestine of a Coastal Teleost *Periophthalmus dipses*, *Toxicology*, **112**, 237-244. DOI: [10.1016/0300-483X\(96\)86481-X](https://doi.org/10.1016/0300-483X(96)86481-X)
- Viarengo, A. (1985).** Biochemical effects of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, **16**(4), 153-158. DOI: [10.1016/0025-326X\(85\)90006-2](https://doi.org/10.1016/0025-326X(85)90006-2)
- Wang, T., Knudsen, P. K., Brauner, C. J., Busk, M., Vijayan, M. M. & Jensen, F. B. (1998).** Copper exposure impairs intra-and extracellular acid-base regulation during hypercapnia in the fresh water Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Comparative Physiology B*, **168**, 591-599.



Broyler Beslemede Protein İhtiyacının Karşılanmasında Yeni Bir Yaklaşım: Böcekler

Fulya ODABAŞI Derya YEŞİLBAĞ*

Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Bursa Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye

Geliş Tarihi: 07.12.2020

Kabul Tarihi: 14.04.2021

Basım Tarihi: 30.06.2021

Atf yapmak için: Odabaşı, F. & Yeşilbağ, D. (2021). Broyler Beslemede Protein İhtiyacının Karşılanmasında Yeni Bir Yaklaşım: Böcekler. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 180-187.

How to cite: Odabaşı, F. & Yeşilbağ, D. (2021). A New Approach to Protein Requirements in Broiler Feeding: Insects. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 180-187.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-1816-2684>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-9174-0079>

***Sorumlu yazarın:**

Derya YEŞİLBAĞ
Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları
Anabilim Dalı, Veteriner Fakültesi, Bursa
Uludağ Üniversitesi, Bursa, Türkiye.
✉: dysesilbag@uludag.edu.tr

Öz: Ülkemiz hayvancılığının gelişmesinde etkili olan sektörlerden biri de kanatlı sektördür. Sektörde ilerleyebilmek için yüksek verimli ırkların kullanılması yanında hayvanların besin madde ihtiyaçları yönünden yeterli ve dengeli diyetlerle beslenme zorunluluğu vardır. Bu zorunluluk kanatlı hayvanların sindirim sistemi fizyolojik yapısından kaynaklanmakta ve sindirimi daha kolay ve esansiyel besin maddelerince zengin ham maddelerin kullanımını gerekli kılmaktadır. Kanatlıların tüketimine sunulan karma yem tüm besin maddelerini içeren ham maddelerin toplamından oluşmaktadır. Bu nedenle karma yemlerinin hazırlanmasında gereksinim duyulan enerji ve protein kaynaklarının sürdürülebilir şekilde diyetle ilave edilmesi oldukça önemlidir. Ülkemiz, değerli protein kaynakları açısından kendi kendine yetebilen bir ülke konumunda olmadığından bu kaynakları dışarıdan almak zorundadır. Kanatlı diyetlerinin protein açığının kapatılmasında, diyetin temelini oluşturan bitkisel ve hayvansal protein kaynaklarına alternatif yeni ham madde arayışı devam etmektedir. Bu alternatif kaynaklardan birisi de böceklerdir.

Anahtar kelimeler: Alternatif protein kaynağı, böcek proteini, kanatlı.

A New Approach to Protein Requirements in Broiler Feeding: Insects

Abstract: One of the sectors that are effective in the development of animal husbandry in our country is the poultry sector. In addition to the use of high-yielding breeds in order to progress in the sector, there is an obligatory nutritional requirement with adequate and balanced diets in terms of nutritional needs of animals. This necessity stems from the physiological structure of the digestive system of poultry and requires the use of raw materials that are easier to digest and rich in essential nutrients. Compound feed offered to the consumption of poultry consists of the sum of raw materials containing all nutrients. For this reason, it is very important to add the energy and protein sources needed in the preparation of mixed feeds to the diet in a sustainable way. Since our country is not in a self-sufficient position in terms of valuable protein sources, it has to take these sources from the outside. In order to close the protein deficit of poultry diets, the search for new raw materials that are alternative to vegetable and animal protein sources, which form the basis of the diet, continues. One of these alternatives is insects

***Corresponding author's:**

Derya YEŞİLBAĞ
Department of Animal Nutrition and
Nutritional Diseases, Faculty of Veterinary
Medicine, Bursa Uludağ University, Bursa,
Turkey
✉: dysesilbag@uludag.edu.tr

Keywords: Alternative protein source, insect protein, poultry.

GİRİŞ

Günümüzde, insan beslenmesinde hayvansal kaynaklı proteinlerin üretimi (süt, yumurta, kırmızı ve

beyaz et) hızla büyüyen bir sektör haline gelmiştir. Hayvansal proteine olan talep her geçen gün artmakta ve 2010 ile 2030 yılları arasında hayvansal proteine olan talebin %45 oranında artacağı tahmin edilmektedir (İpçak

& Alçıçek, 2015). Ancak hayvan beslemede kullanılan proteince zengin hammaddelerde yaşanan sıkıntı, sektörü tehdit edebilecek düzeydedir. Özellikle, ülkemizin protein kökenli bazı yem hammaddeleri konusunda ithalata bağımlı olması gerek iç piyasada gerekse dış piyasada zorluklara yol açmaktadır. Kanatlı üretiminde maliyetlerin yaklaşık %70-80 inin yem kaynaklı olduğu ve yemlerde kullanılan kaliteli protein kaynakları (esansiyel amino asitlerce zengin) arasında başlıca rendering ürünleri ve soyanın bulunduğu düşünüldüğünde, bu hammaddelerin fiyatlarındaki dalgalanmalar üreticileri zor duruma sokabilmektedir. Bu nedenle sektörün etkinliğinde hayvan besleme alanında ekonomik ve sürdürülebilir alternatif hammadde kaynaklarının ortaya konması büyük önem arz etmektedir. Böceklerin, sürdürülebilir ve ucuz protein kaynağı olması, broyler beslemede yem maliyetlerini düşürmede alternatif protein kaynağı olarak kullanılmalarına olanak sağlayabilir. Araştırmalar, böceklerin besin madde bileşiminin, balık unu ve soya fasulyesi küspesi besin madde bileşenleri ile kıyaslandığında önemli farklılıkların oluşmadığını ve broyler üretiminin karlılığına katkıda bulunabileceğini göstermiştir.

Broyler Beslemede Kullanılan Protein Kaynakları: *Proteinler;* aminoasitlerden oluşan yüksek molekül ağırlığına sahip organik bileşiklerdir. Organizmada çeşitli görevler üstlenmektedirler. Canlının hastalıklara karşı korunmasından, asit-baz dengesinin sağlanmasından ve çeşitli özelliklerin nesilden nesile aktarılmasından proteinler sorumludur. Örnek verecek olursak, fizyolojik olayları düzenleyen hormon ve enzimlerin yapısına giren bazı proteinler yaşamın sürdürülmesini sağlamaktadırlar (Ergün vd., 2017). Tüm bu görevleri düşündüğümüzde vücudun hayati fonksiyonlarından sorumlu olduğu görülmektedir. Kısacası, proteinlerin yetersizliğinde, tüm çiftlik hayvanlarında öncelikle verimde gerileme ve yetersizliğin şiddetli ve uzun süreli olduğu durumlarda ise ölümler görülmektedir. Kanatlı diyetlerinde kullanılan proteinin miktarından ziyade kalitesi oldukça önemlidir. Protein kalitesi; proteinin sindirilme oranı, aminoasit bileşimi ve yoğunluğunu ifade etmektedir. Bu nedenle kanatlı beslenmesinde proteinin kendisinden ziyade aminoasit profilinden, özellikle de esansiyel aminoasit içeriğinden söz edilir. Bondari ve Sheppard, (1981) yaptıkları bir çalışmada; proteinin kanatlı diyetleri için çok önemli bir besin maddesi olduğunu ve zarar gören doku ve organların yenilenmesi, büyüme ve gelişmenin sürdürülmesi için mutlaka gerekli olduğunu öne sürmüştür.

Tavuklarda yaşama payı protein ihtiyacı düşüktür. Yani tüketilen proteinin büyük bir kısmı verim payı protein ihtiyacını karşılamak için harcanır. Broyler diyetlerinin yapısını incelediğimizde; başlangıç döneminde ham protein (HP) düzeyinin %22-25, büyüme döneminde %21-

23, bitirme dönemi diyetlerinde ise %19-23 olduğu bilinen bir gerçektir (Ross Broiler Handbook, 2014). Bu yüksek düzeylerdeki ham protein ihtiyacının karşılanabilmesi ancak hayvansal protein kaynakları ile mümkündür. Ayrıca yaşama ve verim dönemine göre hesaplanan protein miktarının esansiyel aminoasitlerle dengelenmesi gerekmektedir.

Kanatlı beslenmesinde özellikle de broyler beslemede kullanılan protein kaynakları başlıca bitkisel ve hayvansal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Bitkisel protein kaynaklarına başlıca; soya fasulyesi küspesi, ayçiçeği küspesi, pamuk tohumu küspesi ve kanola küspesi gibi yağ endüstrisi yan ürünlerine ilaveten baklagiller ve farklı tahıl yan ürünleri örnek olarak verilebilir. Hayvansal protein kaynaklarına ise balık unu, et-kemik unu, kemik unu gibi rendering ürünlerini örnek olarak gösterebiliriz. Bitkisel protein kaynaklarının esansiyel amino asit kompozisyonu özellikle de lizin ve metiyonin içeriği hayvansal protein kaynaklarına göre daha düşük olup sınırlayıcı nitelik taşımaktadır. Hayvansal protein kaynakları ise *Salmonella spp.* gibi patojen bakterilerle bulaşık olması açısından hayvan ve insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Bu amaçla Avrupa Birliği, 999/2001 düzenlemesi ile gıda üretimine yönelik yetiştirilen hayvanların beslenmesinde hayvansal protein kullanımını yasaklamıştır. Türkiye’de de kanatlı rendering ürünlerinin kanatlı diyetlerinde kullanımına 1 Ocak 2017 yılı itibarıyla son verilmiştir. Kanatlı diyetlerinde kullanılan protein kaynaklarına ilişkin bahsedilen sorunlar farklı, sürdürülebilir, ucuz, temini kolay ve dengeli alternatif protein kaynaklarına olan ihtiyacı arttırmaktadır.

Alternatif Protein Kaynağı: BÖCEKLER: Böcekler, hayvansal ve bitkisel protein kaynaklarına alternatif bir protein kaynağı olarak görülmektedir. Bu ifadeyi desteklemek amacıyla Zhao vd., (2016) yeni bir protein alternatifi olan böceklerin, insan ve hayvan gıdası için yüksek miktarlarda yetiştirilmesi gerekliliğini savunduğu bilimsel araştırma sonuçlarını verebiliriz. Yenilebilir böcekler; başlıca, atıkların biokütle dönüşüm oranlarının yüksek olması, kısa yetiştirme süresi ve yüksek protein içeriği gibi belirtilen avantajları ile öne çıkmaktadırlar (Oonincx vd., 2015 & Van Der Fels-Klerx vd., 2016). Çoğunluğu gelişmekte olan ülkeler olmak üzere Dünya’da 2000’den fazla yenilebilir böcek türü olduğu bildirilmiştir (Van Huis, 2015). Böcekler, aslında kanatlı hayvanlar için doğal yem kaynaklarıdır. Çünkü tavuklar açık alanda dolaşma esnasında topraktan kurtçuk, larva ve böcekleri toplayıp tüketebilmektedirler. Kısacası organik tavukçuluğun yapısı içerisinde böcek tüketimi yer almaktadır. FAO’nun hayvan yem kaynakları bilgi sisteminde, siyah sinek larvaları (*Hermetia illucens*), ev sineği kurtçukları, çekirge, cırcır böceği, yemek kurtları, ipek böceği larvaları yer almaktadır (Van Huis vd., 2013).

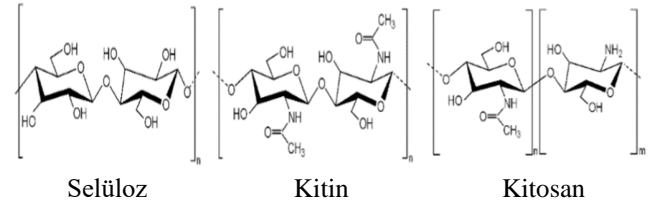
Böceklerin Besin Madde Kompozisyonu: Kanatlı diyetlerine protein kaynağı olarak ilave edilen böceklerin yüksek protein içeriklerinin yanında, yağ, vitamin ve mineral bakımından da zengin kaynaklar olduğu görülmektedir. Payne vd., (2016) çalışma sonuçları, yenilebilir böceklerin besin kalitesinin, besin madde ihtiyaçlarının karşılanmasında yeterli bir protein kaynağı olabileceğini göstermektedir. Fakat böceklerin besin madde bileşimleri, büyüme ortamları ve yetiştirme koşullarına ek olarak yaşam evrelerine de bağlı olarak değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (Makkar vd., 2014). Örneğin, Jozefiak ve Engberg, (2015) karasinek larvasının metiyonin içeriği kanatlı dışkısında yetiştirildiğinde, çeşitli bitkisel artıklarda yetiştirilenlerden daha yüksek olduğunu ortaya koymuştur. Astuti vd., (2018) hurma çekirdeği atığında yetiştirilen Kara Asker Sineğinin %40,29 düzeyinde orta zincirli bir yağ asidi olan ve antimikrobiyel özellik gösterebilen laurik asit içerdiğini bildirmişlerdir. Böcek unlarının doymamış yağ asidi içeriği yüksektir. Hammadde kaynağı olarak kullanılacak böceklerin yüksek doymamış yağ asidi ve protein düzeyi, depolama esnasında oksidasyon ve mikrobiyel bozulma gibi problemlere neden olabilmektedir. Sonuçta bu problemler hammaddenin raf ömrü ve kalitesini etkileyebilen önemli faktörlerdir (Awoniyi vd., 2004). Veldkamp vd., (2012) böcekler arasında yağ içerikleri bakımından önemli farklılıklar bulunduğunu bildirmiştir. Dişi böceklerin erkeklere kıyasla daha fazla yağ içerdiği belirtilmiştir (Finke,2008). Böceklerin mineral madde konsantrasyonları da yüksek olup özellikle demir, çinko, bakır, manganez ve selenyum gibi iz mineraller bakımından önemli bir kaynaktır. Bitkilerde bulunan fosforun değerliliği daha düşükken böceklerde bulunan fosforun değerliliği daha yüksektir. Ancak diğer besin madde içeriklerinde olduğu gibi böceklerin mineral madde içerikleri de beslenme şekillerine ve mevsime göre değişkenlik gösterebilmektedir. Böcek dış kabuğu, kitin içermekte olup, büvelek sineği ve un kurdu larvalarında kitin içeriği yaklaşık KM üzerinden %5.4 ve %2.8 olarak belirlenmiştir (Finke, 2013).

Böcekler besin madde profili (protein, yağ, vitamin, mineral) yanında fonksiyonel özellik gösteren yapıları da bünyelerinde taşımaktadırlar.

Böceklerin Fonksiyonel Özellik Gösteren Yapıları: Kitin – Kitosan - Kitosan Oligosakkariti: Kitin; Böcek ve örümcek gibi karada yaşayan birçok eklem bacaklı hayvanın dış iskeletine sertlik veren sert, elastik olmayan, azotlu polisakkarit yapıda bir karbonhidrattır (Kumar, 2000). Selülozdan sonra doğada en çok karşılaşılan polisakkarittir. Jozefiak vd., (2016) Celeoptera, Diptera, Dictyoptera ve Ephemeroptera larvalarının kuru maddede % 2.7-16.2, eklem bacaklıların ise % 18-60 oranında kitin içerdiğini saptamıştır. Kitinin

birçok türü bulunur ve bunlar arasında en önemlisi kitosandır. (Şekil 1)

Kitosanın daha yüksek çözünürlüğe sahip düşük molekül ağırlıklı oligosakkarit formu olan kitosan oligosakkarit (KOS) türü geliştirilmiştir. Kitin ve özellikle kitosan oligosakkaritleri, tavuk diyetlerine yem katkı maddesi olarak ilave edildiğinde; antimikrobiyal, antioksidan, immünomodülatör ve hipokolesterolemik etkiler gösterebilmektedir (Swiatkiewicz vd., 2015).



Şekil 1. Kitin türevleri (Yıldırım vd.,2015).

Figure1. Chitin derivatives (Yıldırım et al.,2015).

Kitin ve özellikle kitosanın biyolojik özelliklerinden en önemlisi sahip oldukları antimikrobiyal aktivitedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda kitosanın bakteriler üzerindeki inhibitör etkisinin daha çok bakteriyostatik olduğu görülmüştür (Goy vd., 2009 & Kong vd., 2010). Kitosan ve türevlerinin antimikrobiyal etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Kitinden farklı olarak kitosan ve KOS primer amino gruplarına sahiptir ve antimikrobiyel etkide bu amino gruplarının önemli olduğu varsayılmaktadır (Chen vd., 2002). Ortamın pH değerinin, kitosan ve türevlerinin sahip olduğu amino gruplarının pKa değerinden (6,3-6,5) düşük olması durumunda kitosan ve türevleri polikasyonik bir yapı kazanmaktadır. Bu yapıdaki kitosan ile mikroorganizmaların yüzeyinde bulunan anyonik bileşenler arasında meydana gelen elektrostatik etkileşimin antibakteriyel aktivitede önemli olduğu ortaya konulmuştur (Kong vd., 2010). Bu elektrostatik etkileşim hücre yüzeyinde negatif ve pozitif yüklerin dağılımının farklılaşmasına neden olur. Bu farklılaşma membran stabilitesinin bozulmasına ve geçirgenliğinin değişmesine neden olmaktadır. Membran geçirgenliğinin değişmesi sonucu besin maddeleri hücre içerisine girememekte veya hücre içi bileşenleri (örneğin glukoz, K iyonları, düşük moleküler ağırlığına sahip proteinler, nükleik asitler, laktat dehidrogenaz enzimi) hücre dışına sızmakta ve bunların sonucunda da hücre ölümü gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalar kitosan ve türevlerinin ilk etki ettiği yerin hücre duvarı olduğunu ve mikroorganizma ölümünün ise membran yapısının bozulmasından kaynaklandığını göstermiştir (Helander vd., 2001 ; Qi vd., 2004).

Kitosan iskeletine bağlı proton bağlayabilen amino gruplarının sayısı elektrostatik etkileşimde önemli görevler üstlenmektedir (Kim vd., 2005 ; Kong vd., 2010). Jeon vd., (2001) amino grubu sayısını arttırmak için N-ucuna asparajin aminoasidi eklenmiş Kitosan

oligosakkaritleri ile yaptıkları çalışmada, bu yapıdaki kitosanın bakteri hücre duvarındaki negatif yüklü karboksil gruplarıyla daha kuvvetli etkileşime girdiğinin belirlenmesi bu durumu kanıtlar niteliktedir.

Kitosanın antioksidan aktivitesi serbest radikalleri söndürme veya metal iyonlarını bağlama aktivitesinden ileri gelmektedir. Kitosanın içerdiği hidroksil (-OH) ve amino (-NH₂) grupları stabil olmayan serbest radikallerle reaksiyona girerek onların stabil moleküllere dönüşmesini sağladıkları ve metal iyonlarını bağladıkları için antioksidan aktiviteden sorumlu temel fonksiyonel gruplardır. Sun vd., (2008) kitosan ve türevlerinin antioksidan aktivitesini esas olarak polimer zincirlerindeki aktif hidroksil ve amino gruplarına bağlı olarak gösterdiğini bildirmiştir. Huang vd., (2005) kitosan oligosakkaritinin metal iyon tutum yeteneğinin hidroksil radikal tutucu potansiyeli üzerine büyük ölçüde etkisinin olduğunu bildirmiş ve antioksidan etkisinin bu özelliğinden kaynaklanabileceğini belirtmiştir. Kitosan oligosakkaritlerinin serbest radikal tutucu özelliği deasetile edilme derecesine ve moleküler ağırlığına bağlı olarak değişmektedir. Yin vd., (2002) düşük molekül ağırlığına sahip KOS'in 0.5 mg/ml düzeyindeki konsantrasyonda % 80'den daha fazla süperoksit radikal tutucu aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Je vd., (2004) yüksek derecede deasetile (% 90) edilmiş Kitosan oligosakkaritinin hidroksil, süperoksit ve karbon merkezli radikallerin tutulumunda daha etkili olduğunu ileri sürülmüştür.

Kitosan oligosakkaritlerinin antikanserijen etkisinin ise lökositler, sitotoksik T hücreleri ve natürel killer hücreler gibi immun sistem savunma hücrelerinin uyarılmasıyla oluştuğu fakat doğrudan tümör hücrelerini öldürme gibi bir etkilerinin olmadığı düşünülmektedir (Tokoro vd., 1998). Antikanserijen etki de kitosan oligosakkaritlerinin molekül ağırlığı önemli rol oynamaktadır.

Kitosan ile ilgili yakın zamanda yapılan çalışmalar, bu maddenin hipokolesterolemik ve hipolipidemik etkisinin de olduğunu göstermiştir. Bu etkisinin, yemdeki yağları bağlayabilme ve bağırsaktan absorpsiyonunu önleyebilme yeteneğine bağlı olduğu belirtilmiştir. Kobayashi vd., (2002) tarafından yapılan bir çalışmada kitosanın broylerlerde abdominal yağ düzeyinde önemli bir azalma yarattığı ve ince bağırsak içeriğinde lipaz aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir.

Suzuki vd., (2002) tavukların proventrikulus ve karaciğer hücrelerinde kitinaz enziminin üretildiğini fakat üretimin yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle kitinin sindirilebilirliği sınırlı düzeydedir (Hossain & Blair, 2007). Böceklerin kutiküler iskeletinde yüksek düzeyde (% 45'e kadar) yer alan kitinin yem tüketimini olumsuz etkilediği ve protein sindirilebilirliğini azalttığı saptanmıştır (Longvah vd., 2011). Bu nedenlerden dolayı kitin ve türevlerinin çeşitli işlemlere tabi tutulduktan sonra

diyetlere yem katkı maddesi olarak eklenmesi daha uygundur.

Hayvan Beslemede Böceklerin Kullanımı:

Avrupa Birliği'nde yoğun soya üretiminin çevreye olan olumsuz etkileri (yüksek su gereksinimi, ekimi için ormanlık alanların tahribatı, zirai ilaç ve gübre kullanımı) başta olmak üzere önceki bölümlerde belirtilen birçok nedene bağlı olarak kanatlı yemlerinde böcek proteininin kullanılabilme potansiyeli artış göstermektedir. Doğada serbest dolaşım olarak yetiştirilen tavuklar, tüm yaşam evrelerinde böcekleri severek tüketmektedir. Bu durum, böceklerin kanatlı diyetinin doğal bir parçası olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, kanatlı diyetlerine böcek proteinlerinin dâhil edilmesi ve böcek yetiştiriciliğinin yaygınlaştırılması amacıyla uygun yetiştirme sistemlerinin geliştirilmesi doğru bir yaklaşım olarak görünmektedir. Nitekim 8 Ekim 2015 tarihinde Avrupa Gıda Güvenliği otoritesi böcek proteinlerinin insan ve hayvanlar için protein kaynağı olarak kullanımının risk değerlendirmesi sonucunda, böcek proteinlerinin diğer hayvansal proteinlerle benzer riskler gösterdiğini açıklamıştır.

Avrupa Birliği 2017/893 sayılı düzenleme ile, Temmuz 2017 tarihinden itibaren 7 farklı böcek proteininin su ürünleri yetiştiriciliğinde yemlerde kullanımına izin vermiştir. - Black soldier fly - Siyah asker sineği (*Hermetia illucens*) - Common housefly -Ev sineği (*Musca domestica*) - Yellow mealworm- Sarı un kurdu (*Tenebrio molitor*) - Lesser mealworm- Altlık böceği (*Alphitobius diaperinus*) - House cricket-Ev cırcırı (*Acheta domestica*) - Banded cricket-Tropikal ev cırcırı (*Gryllobates sigillatus*) - Field cricket-Çayır Cırcırı (*Gryllus assimilis*).

Ancak henüz çiftlik hayvanlarının beslenmesinde kullanımına izin verilmemiştir. Bununla birlikte 2022 yılına kadar kanatlı diyetlerinde işlenmiş böcek proteinlerinin kullanımına izin verilmesi beklenmektedir.

Hollanda'da Protix ve Bühler Insect Technology firmaları tarafından hayvan yemlerinde kullanılmak üzere siyah asker sineği üretimi için ilk endüstriyel ölçekli tesisler kurulmuştur. Protix firması böcek unu ve yağı üreticisi olarak üretim kapasitesini artırmak ve hayvan yemlerinde böceklerin kullanımına ilişkin Ar-Ge çalışmalarına 45 milyon € fon aktarmıştır. Böcek üreticisi Agri Protein firması ise ABD ve Kanada'da 20 böcek çiftliği kurmuş, global hedefin 2020'de 100, 2027'de 200 çiftliğe çıkarmak olduğunu açıklamıştır (Koeleman, 2017).

Hayvan Besleme Açısından Böcek Üretiminin

Avantaj ve Dezavantajları: Yem amacıyla kullanılan böcekler gübre ve organik atıklar üzerinde yetiştirilebilmektedirler. Bu durum hem sürdürülebilirlik hem de çevre kirliliğinin önlenmesi bakımından önemli bir avantaj sağlamaktadır. Yem hammaddesi olarak böcekler, yetişkinlerinin yanı sıra larva ve pupa gibi gelişim dönemleri de kullanılabilir. Büyüme hızı,

yemden yararlanmaları çok yüksektir. Bir kg böcek proteini üretmek için yaklaşık 2 kg organik artık ile 1 m² alan yeterli olmaktadır (Van Broekhoven vd., 2015). Ayrıca, 1 kg et üretimi için böcekler, sığır ve domuzlara kıyasla atmosfere çok daha küçük miktarlarda sera gazı ve amonyak bırakmaktadırlar (Smith & Pryor, 2014). Kanatlı rasyonlarına böceklerin ilave edilmesiyle yem maliyetlerinin de aşağı çekileceği gerçeği de önemli bir avantajdır. Yem bileşeni olarak böceklerin kullanılması aynı zamanda, tarlada böceklerin ürüne verdiği zararı azaltacak, pestisitlerin kullanımını minimize edecek ve çevresel kirliliğin azalmasına katkıda bulunacaktır.

Günümüzde böcek türlerinin kanatlı hayvan beslemede kullanımına yönelik en büyük engel üretim miktarının yetersiz oluşu, elde edilen ürünlerdeki standardizasyonun sağlanamaması ve maliyetidir. Ancak uygun böcek türünün doğru belirlenmesi ve böcek üreten şirketlerin artması ve otomasyonun kullanımı ile üretimin artacağı ve maliyetin azalacağı düşünülmektedir. Böcekler protein başta olmak üzere yüksek besin maddesi içeren, sürdürülebilir besin maddesi kaynağı olmaları yanında göz ardı edilmemesi gereken bazı risk faktörlerini de içermektedirler. Bunlar; mikrobiyal, kimyasal, toksikolojik ve alerjik riskler olarak sıralanabilir. Böcekler toksin üretebilir ve bazı durumlarda da mineral düzeyleri toksik seviyede olabilir. Bunların yanı sıra, bazı böcek türlerinin yapılarında bulunan antinutrisyonel faktörler (tiyamin bağlayıcı siyanojenik glikozitler), zehirli böcek türleri ve allerjenik reaksiyonlar diğer risk faktörleri arasında bulunmaktadır. Böcek türlerinin yem hammaddesi olarak kabul edilebilmesi için üzerlerinde fazla sayıda bilimsel çalışma yapılması ve olumlu ve olumsuz yönlerinin belirlenmesi gerekmektedir. Her ne kadar böcek türleri yem kalitesi açısından önemli bir potansiyel olsa da Avrupa Birliği şu an için böcek proteinlerinin yem olarak değerlendirilmesine izin vermemiştir.

Kanatlı diyetlerinde Böcek Kullanımının Elde Edilen Hayvansal Ürünler Açısından Değerlendirilmesi (Tüketici Değerlendirmeleri): Kanatlı diyetlerinde böcek unu ve böcek gibi fonksiyonel ürünlerinin kullanılmasının birçok açıdan avantaj sağladığı bilinmesine rağmen, bu ham maddeleri tüketen hayvanlardan elde edilen ürünlerin kalitesi ve tüketici tercihleri yönünde yapılan çalışmalar çok yeni olup devam etmektedir. Sun vd., (2013) erkek broylerlerde et kalitesini belirleme üzerine yaptıkları bir çalışmada; mısır ve soya fasulyesi bazlı diyetle beslenen kontrol grubu ile büyük bir çekirge popülasyonu içeren otlaklarda yetiştirilen deneme grubu arasındaki farklılıklar ortaya koymayı amaçlamıştır. Bu çalışmaya göre deneme grubunun göğüs ve but eti, çiğneme, lezzet ve aroma bakımından kontrol grubuna göre daha çok beğenilirken, renk ve sululuk bakımından iki grup arasında önemli bir fark görülmediği tespit edilmiştir. Ancak araştırmacılarında belirttiği gibi gruplar arasında oluşan

farkın çekirge tüketiminden mi, geniş beslenme seçiminden mi yoksa artan hareketlilikten mi kaynaklandığı net olarak ortaya konulamamıştır. Khan vd., (2018) farklı türdeki böcek küspesi (kurtçuk küspesi, ipekböceği küspesi, yem kurdu) ile beslenen broyler piliçlerin etinin organoleptik özelliklerini karşılaştırmak için yaptıkları çalışmada duyuşal profil üzerinde hiçbir fark bulunmadığını bildirmişlerdir. Kara asker sineği larvasının broyler diyetlerine dâhil edilmesinin et kalitesine etkisinin incelendiği bir çalışmada, kara asker sineği larvasını tüketen broylerlerde etin pH'sının daha düşük olduğu ve renginin daha açık olduğu gözlenmiştir. Ayrıca böcek ürünleri tüketen broyler piliçlerin etlerinde doymuş yağ asitlerinin (SFA) ve aterosjenik indeksin (AI) toplam miktarı artarken, çoklu doymuş yağ asitleri (PUFA), PUFA ile SFA (P / S), n-6/n-3 PUFA hipo/hiperkolesterolemik yağ asitleri oranlarının azaldığı gözlemlenmiştir.

Proteinsect Avrupa Projesi kapsamında 2013-2014 ve 2015 yılları arasında diyetlerine böcek ilave edilmiş hayvanlardan elde edilen ürünlerin tüketimi ile ilgili iki anket gerçekleştirilmiş ve anket sonuçlarına göre katılımcıların %64'ü böceklerle beslenen çiftlik hayvanlarının ürünlerinin tüketilmesini sağlık açısından düşük riskli ya da risksiz olarak değerlendirmiştir. Yine örneklemin %88'i konuyla ilgili bilgi eksikliğine dikkat çekmiş ve daha fazla bilgi istenmiştir (Proteinsect, 2016). Verbeke vd., (2015)'nin Belçikalı çiftçiler, tarım sektörü çalışanları ve vatandaşlarla yaptıkları anket sonuçları, genellikle katılımcıların böceklerin özellikle balık ve kümes hayvanı diyetlerine ilave edilmesinde bir sakınca görmediklerini ortaya koymuştur. Laureati vd., (2015) böceklerle beslenen hayvansal ürünlerin tüketimi ile ilgili farklı bakış açılarını karşılaştırmak için, 341 öğrenci ve Milano Üniversitesi çalışanları ve akademiyle ilgisi olmayan tüketicilerle iki aşamalı bir anket gerçekleştirmiş ve örneklemin % 53'ünün böceklerin hayvan diyetlerine dâhil edilmesini ve bu şekilde yetiştirilen hayvanların ürünlerini tüketmeye hazır olduklarını belirttiklerini bildirmişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada ise Macar katılımcılara, Free-Range modeli ile yetiştirilen hayvanlardan elde edilen etler ile diyetlerine böcek unu ilave edilmiş hayvanlardan elde edilen etleri tüketme konusundaki fikirleri sorulmuş ve sonuçta 1-7 ölçeğinde yapılan ankette katılımcıların, serbest dolaşan hayvanların eti için 5,11 puan verirken, böcek unu tüketen hayvanların eti için önemli ölçüde daha az puan (3,69) verdikleri belirtilmiştir (Szendro vd., 2020).

SONUÇ

Böcek kökenli protein kaynaklarının kanatlı diyetlerinde kullanımı teknik olarak mümkün görülmekte ve yem maliyetlerinin azaltılması, çevre kirliliğinin önlenmesi, yeni istihdam sahaları oluşturulması gibi birçok

açından avantaj sağlayacağı düşünülmektedir. Ancak, böcek üretiminin mikrobiyel bulaşmaya yol açabilmesi ve böcek kökenli yemlerde bulunabilecek toksinlerin bu yemi tüketen hayvanlarda alerjik ve toksik etki oluşturabilmesi ve üretimde standardizasyonun sağlanamaması gibi konulardan endişe duyulmaktadır. Sonuç olarak; böcek unlarının yem değeri, sindirilebilirliği, broyler diyetlerine ne kadar ilave edilebileceği, fonksiyonel avantajları, negatif etkileri, üretim modeli ve standardizasyonu, bu modelle beslenmiş hayvanların ürünlerinin kalitesi ve pazar payı gibi konularda daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu göz ardı edilmemeli ve böcek kökenli protein kaynaklarının kanatlı yemi olarak kullanılmasının bilimsel veriler ışığında oluşturulacak mevzuat çerçevesinde gerçekleştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aviagen Ross-308 Performans Kitapçığı, (2014).** http://tr.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-308-Broiler-PO-2014-EN.pdf.2014
- Awoniyi, T.A.M, Adetuyi, F.C & Akinyosoye, F.A. (2004).** Microbiological investigation of maggot meal, stored for use as livestock feed component. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 2, 104-106.
- Bondari K & Sheppard DC. (1981).** Soldier fly larvae as feed in commercial fish production. *Aquaculture*, 24, 103-109. DOI: 10.1016/0044-8486(81)90047-8
- Chen, Y.M., Chung, Y.C., Wang, L.W., Chen, K.T & Li, S.Y. (2002).** Antibacterial properties of chitosan in wtarborne pathogen. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 37, 1379-1390. DOI: 10.1081/ESE-120005993
- Ergün, A., Çolpan, İ., Yıldız, G., Küçükersan, S., Tuncer, D. Ş., Yalçın, S., Küçükersan, M. K., Şehu, A. & Saçaklı, P. (2017).** *Hayvan besleme ve beslenme hastalıkları*, 7, 63-65s, Ankara.
- Finke, MD. (2008).** Nutrient content of insects. In J.L. Capineira (Ed.), *Encyclopedia of Entomology*, 2nd ed., 2687-2710p, Springer Netherlands.
- Finke, M.D. (2013).** Complete nutrient content of four species of feeder insects. *Zoo Biology*, 32, 27-36. DOI: 10.1002/zoo.21012
- Goy, R.C., De Britto, D. & Assis, O.B.G. (2009).** A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. *Polimeros*, 19(3), 241-247. DOI: 10.1590/S0104-14282009000300013
- Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J. & Roller, S. (2001).** Chitosan Disrupts the Barrier Properties of the Outer Membrane of Gram-Negative Bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 71(2-3), 235-244. DOI: 10.1016/S0168-1605(01)00609-2
- Hossain, S.M. & Balur, R. (2007).** Chitin utilisation by broilers and its effect on body composition and blood metabolites. *British Poultry Science*, 48(1), 33-38. DOI: 10.1080/00071660601156529
- Huang, R., Mendis, E. & Kim, SK. (2005).** Factors affecting the free radical scavenging behavior of chitosan sulfate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 36(1-2), 120-127. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2005.05.001
- İpçak, H. H. & Alçıçek, A. (2015)** Hayvan Beslemede Alternatif Protein Kaynaklarının Geliştirilmesi. *11. Ulusal Zooteknik Öğrenci Kongresi*, 14
- Je, JY., Park, PJ. & Kim, SK. (2004).** Free radical scavenging properties of hetero chitooligosaccharides using an ESR spectroscopy. *Food Chemical Toxicology*, 42(3), 381-387. DOI: 10.1016/j.fct.2003.10.001
- Jeon, Y.J., Park, P.J. & Kim, S.K. (2001).** Antimicrobial effect of chitooligosaccharides produced by bioreactor. *Carbohydrate Polymers*, 44(1), 71-76.
- Jozefiak, D. & Engberg, RM. (2015).** Insect as poultry feed. *20th European symposium on Poultry Nutrition*, 24-27 August 2015, Prague, Czech Republic, 73-79.
- Jozefiak, D., Józefiak, A., Kieronczyk, B., Rawski, M., Swiatkiewicz, S., Dlugosz, J. & Engberg, R.M. (2016).** Insects – A natural nutrient source for poultry. *Annals of Animal Science*, 16(2), 297–313. DOI: 10.1515/aoas-2016-0010
- Khan, S., Khan, R.U., Alam, W. & Sultan, A. (2008).** Evaluating the nutritive profile of three insect meals and their effects to replace soya bean in broiler diet. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*, 102(2), 662-668. DOI: 10.1111/jpn.12809
- Kim, H.J., Chen, F., Wang, X. & Rajapakse, N.C. (2005).** Effect of chitosan on the biological properties of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53(9), 3696-3701. DOI: 10.1021/jf0480804
- Kobayashi, S., Terashima, Y. & Itoh, H. (2002).** Effects of dietary chitosan on fat deposition and lipase activity in digesta in broiler chickens. *British Poultry Science*, 43(2), 270-273. DOI: 10.1080/00071660120121490
- Koeleman, E. (2017).** *There is a bug in the (feed) system!* Erişim Tarihi: 16.02.2018, <http://www.allaboutfeed.net/New-Proteins/Articles/2017/12/There-is-abug-in-the-feed-system-222668E>
- Kong, M., Chen, X.G., Xing, K. & Park, H.J. (2010).** Antimicrobial properties of chitosan and mode of

- action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, **144**, 51-63. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012)
- Kumar, Majeti NV Ravi.**(2002). A review of chitin and chitosan applications. *Reactive and Functional Polymers*, **46**, 1-27. DOI: [10.1016/S1381-5148\(00\)00038-9](https://doi.org/10.1016/S1381-5148(00)00038-9)
- L. W. D. van Raamsdonk, H. J. van der Fels-Klerx. & J. de Jong.** (2017). New feed ingredients: the insect opportunity. *Food Additives & Contaminants: Part A*, **34**(8), 1384-1397. DOI: [10.1080/19440049.2017.1306883](https://doi.org/10.1080/19440049.2017.1306883)
- Laureati, M., Proserpio, C., Jucker, C. & Savoldelli, S.** (2016). New sustainable protein sources: Consumers' willingness to adopt insects as feed and food. *Italian Journal of Food Science*, **28**, 652-668.
- Longvah, T., Mangthya, K. & Ramulu, P.** (2011). Nutrient composition and protein quality evaluation of eri silkworm (*Samia ricinii*) prepupae and pupae. *Food Chemistry*, **128**(2), 400-403. DOI: [10.1016/j.foodchem.2011.03.041](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.041)
- Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuzé, V. & Ankers, P.** (2014). State of the art on use of insects as animal feed. *Animal Feed Science & Technology*. **197**, 1-33. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008)
- Oonincx, D. G. A. B., Van Broekhoven, S., Van Huis, A. & Van Loon, J. J. A.** (2015). Feed conversion, survival and development, and composition of four insect species on diets composed of food by-products. *Plos One*, **10**(12), 1-20. DOI: [10.1371/journal.pone.0144601](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144601)
- Payne, C. L.R., Scarborough, P., Rayner, M. & Nonaka, K.** (2016). Asystematic review of nutrient composition data available for twelve commercially available edible insects, and comparison with reference values. *Trends in Food Science & Technology*, **47**, 69-77. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.10.012>
- PROteINSECT** (2016). *Enabling the exploitation of Insects as a Sustainable Source of Protein for Animal Feed and Human Nutrition*. Final Report Summary PROTEINSECT. <https://cordis.europa.eu/project/rcn/105074/reporting/en>
- Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C. & Zou, X.** (2004). Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*, **339**(16), 2693-2700. DOI: [10.1016/j.carres.2004.09.007](https://doi.org/10.1016/j.carres.2004.09.007)
- Smith, R. & Pryor, R.** (2014). Enabling the exploitation of insects as a sustainable source of protein for animal feed and human nutrition. PROteINSECT grant agreement number: 312084. 5p. Pro-Insect Platform in Europe-Deliverable
- Sun, T., Yao, Q., Zhou, D. & Mao, F.** (2008). Antioxidant activity of N-carboxymethyl chitosan oligosaccharides. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **18**(21), 5774-5776. DOI: [10.1016/j.bmcl.2008.09.072](https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.09.072)
- Sun, T., Long, R.J. & Liu, Z.Y.** (2013). The effect of a diet containing grasshoppers and access to free-range on carcass and meat physicochemical and sensory characteristics in broilers. *British Poultry Science*, **54**, 130-137. DOI: [10.1080/00071668.2012.756575](https://doi.org/10.1080/00071668.2012.756575)
- Suzuki, M., Fujimoto, W., Goto, M., Morimatsu, M.S. & Toshihiko, I.** (2002). Cellular Expression of Gut Chitinase mRNA in the Gastrointestinal Tract of Mice and Chickens. *Journal of Histochemistry Cytochemistry*, **50**, 1081-1089. DOI: [10.1177/002215540205000810](https://doi.org/10.1177/002215540205000810)
- Światkiewicz S., Swiatkiewicz M., Arczewska-Wlosek A. & Jozefiak D.** (2015). Chitosan and its oligosaccharide derivatives (chito-oligosaccharides) as feed supplements in poultry and swine nutrition. *Journal of Animal Physiology Animal Nutrition*, **99**, 1-12. DOI: [10.1111/jpn.12222](https://doi.org/10.1111/jpn.12222)
- Szendro, K. , Zita Nagy, M. & Tóth, K.** (2020). Consumer Acceptance of Meat from Animals Reared on Insect Meal as Feed. *Animals*, **10**(8), 1312. DOI: [10.3390/ani10081312](https://doi.org/10.3390/ani10081312)
- Tokoro, A., Tatewaki, N., Suzuki, K., Mikami, T., Suzuki, S. & Suzuki, M.** (1998). Growth inhibitory effect of hexa-N-acetylchitohexaose and chitohexaose and Meth-A solid tumor. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 784-790. DOI: [10.1248/cpb.36.784](https://doi.org/10.1248/cpb.36.784)
- Van Broekhoven, S., Gutierrez, M.J., De Rijk, T.C., De Nijs, W.C.M. & Van Loon, J.J.A.** (2017). Degradation and excretion of the Fusarium toxin deoxynivalenol by an edible insect, the Yellow mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *World Mycotoxin Journal*, **10**(2), 163-169. DOI: [10.3920/WMJ2016.2102](https://doi.org/10.3920/WMJ2016.2102)
- Van Huis, A.**, (2015). Edible insects contributing to food security? *Agriculture & Food Security*, **4**, 20.
- Van Huis, A.V., Itterbeeck, J.V., Klunder, H., Mertens, E., Halloran, A., Muir, G. & Vantomme, P.** (2013). Edible insects: Future prospects for food and feed security. *FAO Forestry Paper*, **171**.
- Veldkamp, T., Van Dunkerken, G., Van Huis, A., Lakemond, C.M.M., Ottevanger, E., Bosch, G. & Van Boekel, M.A.J.S.** (2012). Insects as a sustainable feed ingredient in pig and poultry diets – a feasibility study. Report 638, Wageningen UR Livestock Research.

-
- Verbeke, W., Spranghers, T., De Clercq, P., De Smet, S., Sas, B. & Eeckhout, M. (2015).** Insects in animal feed: Acceptance and its determinants among farmers, agriculture sector stakeholders and citizens. *Animal Feed Science & Technology*, **204**, 7287. DOI: [10.1016/j.anifeedsci.2015.04.001](https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.04.001)
- Yıldırım, Z., Oncül, N. & Yıldırım, M. (2015).** Kitosan ve antimikrobiyal özellikleri. *Niğde Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **5**(1), 19-36.
- Yin, XQ., Lin, Q., Zhang, Q. & Yang, LC. (2002).** O²-scavenging activity of chitosan and its metal complexes. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, **19**, 325-328.
- Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R. & Langton, M. (2016).** Yellow mealworm protein for food purposes - extraction and functional properties. *Plos One*, **11**(2). DOI: [10.1371/journal.pone.0147791](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147791)



Protective Effects of Zeolite (*Clinoptilolite*) on Copper Toxicity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*)

Mustafa TÜRKMEN^{1*} Zühtü Mete DİNLER²

¹Giresun University, Department of Biology, 281000, Giresun, Türkiye
²İskenderun Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Iskenderun, Türkiye

Geliş/Received: 21.12.2020

Kabul/Accepted: 13.04.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Türkmen, M. & Dinler, Z.M. (2021). Protective Effects of Zeolite (*Clinoptilolite*) on Copper Toxicity in Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 188-194.

Atıf yapmak için: Türkmen, M. & Dinler, Z.M. (2021). Zeolitin (*Clinoptilolite*) Tilapiya (*Oreochromis niloticus*)’da Bakır Toksisitesi Üzerine Koruyucu Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 188-194.

<https://orcid.org/0000-0001-6700-5947>
 <https://orcid.org/0000-0002-3963-2510>

*Corresponding author’s:
Mustafa TÜRKMEN
Giresun University, Department of Biology,
281000, Giresun, Türkiye.
✉: mturkmen65@hotmail.com

Abstract: In this study, the protective effects of zeolite added to water on tilapias exposed to sub-lethal concentration of copper was investigated. Treatment groups were copper, copper+zeolite, zeolite, and control. After 90 days trial, weight-length, copper accumulation in the liver, and muscle protein ratios of fishes were measured. BUN, LDH, glucose, cholesterol, and triglyceride parameters of blood were also measured by taken monthly blood samples. The highest increase in weight was observed in zeolite treatment by 68.5%. Copper accumulations in the liver were 12.6; 10.8; 1.27 and 1.33 ppm for the copper, copper + zeolite, zeolite, and the control groups, respectively. Although BUN, LDH, cholesterol of copper + zeolite treatment were lower, triglyceride and glucose levels were higher compared to the control group ($p<0.05$). Muscle protein ratios decreased in all treatments at the end of the study. According to these results, zeolite treatment against copper toxicity in tilapia would be recommended.

Keywords: Blood parameters, *Clinoptilolite*, natural zeolite, *Oreochromis niloticus*, tilapia.

Zeolitin (*Clinoptilolite*) Tilapiya (*Oreochromis niloticus*)’da Bakır Toksisitesi Üzerine Koruyucu Etkisi

Öz: Bu çalışmada bakırın sublethal düzeyine maruz kalmış Tilapya larvaları üzerine suya ilave edilen zeolitin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Muameleler; bakır, bakır+zeolit, zeolit ve kontroldür. Doksan günlük deneme sonunda balıkların ağırlık ve boyca gelişimi, karaciğerde bakır birikimi ve kas protein oranları ölçülmüştür. Ayrıca her ay yapılan kan örneklemelerinde BUN, LDH, glikoz, kolesterol, trigliserit parametreleri de ölçülmüştür. Ağırlık değişimi en yüksek % 68,5 oranı ile zeolit muamelesinde bulunmuştur. Karaciğer bakır birikimleri bakır, bakır + zeolit, zeolit ve kontrol muameleleri için sırasıyla 12,6; 10,8; 1,27; 1,33 ppm olarak bulunup, istatistiksel olarak aralarındaki fark önemlidir ($p<0,05$). Deneme sonunda bakır + zeolit muamelesinin kan parametreleri, kontrol muamelesi ile karşılaştırıldığında, BUN, LDH, kolesterol seviyesi düşük bulunmuştur. Buna karşın trigliserit ve glikoz seviyesi yüksek bulunmuştur. Başlangıç protein oranına göre, deneme sonundaki kas protein oranı düşük bulunmuştur. Bu sonuçlara göre, Tilapya’da bakır toksisitesine karşı zeolit uygulanması önerilebilir.

*Sorumlu yazar:
Mustafa TÜRKMEN
Giresun Üniversitesi, Biyoloji Bölümü,
28100, Giresun, Türkiye
✉: mturkmen65@hotmail.com

Anahtar kelimeler: *Clinoptilolite*, doğal zeolit, kan parametreleri, *Oreochromis niloticus*, tilapya.

INTRODUCTION

Copper sulfate can be used in aquaculture for algae control in ponds, including high-build and filamentous algae such as *Chara*. Besides, it is used for the control of external parasites such as *Ichthyophthirius multifiliis*. If the environment alkalinity is lower than 50 ppm or higher than 250 ppm, copper sulphate should not be applied (Boyd & Tucker, 1998; Watson & Yanong, 2002). Car graveyards, cooling water discharges, copper-containing pesticides, water distribution pipes, brake linings of vehicles such as cars, trucks, buses and trucks, metal plating and processing industry, refineries, roofing materials and mine smelting enterprises are reported as sources of copper contamination in the environment (Fialkowski & Newman, 1998). Soluble copper compounds from agricultural runoff can be extremely harmful. When they enter aquatic ecosystems, they usually bind to particles in the water in about a day and thus pose less of a threat to the environment depending on the environmental conditions. It is reported that copper is not carcinogenic (ATSDR, 2003).

Evaluation of blood parameters in animals is a conventional method and an important finding. With this simple technique, it is possible to make reliable decisions about the physiological situation of the animal. Many factors are affecting the blood parameters in fish. These may be environmental (temperature, photoperiod, density, salinity), physiological (sexual maturation cycle, age, gender, nutrition), and social (social hierarchy) factors. Monitoring of blood chemistry in aquaculture practices has been reported to be closely linked to water quality, disease or exposure to toxic substances (Başusta, 2005; Chen et al., 2003; Türkmen et al., 2000). Cholesterol, a type of lipid, is the most important member of the sterols found in animal tissues. It is found as free and combined with fatty acids in all cells and blood of fish. It has been found that serum cholesterol level in fish varies according to gender. If its amount in the blood is high, it can cause cardiovascular diseases. Fish needs a certain amount of to maintain their vital functions (Akyurt, 2004). It reduces the blood cholesterol level of copper, chromium, calcium, vitamin C and E. Salts increase the cholesterol level in the blood (Alfin-Slater & Howton, 1993). There may be an increase in serum BUN levels of fish that add copper to their diet. This increase causes deterioration and incomplete development of gill epithelial cells and should be understood as a clinical explanation of the impairment in respiratory and excretory balance (Cicik, 2003).

Although zeolite studies have continued intensively in the last 50 years, the use of natural zeolite has gained importance in recent years. Natural zeolites remove cations from water by ion exchange (Türkmen et

al., 2001). Clinoptilolite has a very high selectivity against heavy metal ions such as Pb^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Fe^{+2} and Mn^{+2} (Park, 2000; Türkman et al., 2001). It is known that heavy metal pollution causes stress in fish and stress-related changes occur in metabolism. Glycogen stored in the muscle and liver tissues of fish is used to meet the urgent energy requirement under stress (Cicik, 2003; Akyurt, 2004). There are many studies on metal toxicity and the effect of zeolite on blood parameters in fish (Fırat & Şahin İnandı, 2016; Mutlu et al., 2016; Oğuztürk et al., 2018; Çoğun & Kargın, 2019; Çoğun & Kargın, 2020; Chen et al., 2020). In this study, it was aimed to investigate the protective effect of zeolite in the water on tilapia exposed to the sub-lethal level of copper sulfate. Due to the high ion exchange capacity of the zeolite, the effects of copper on the accumulation of fish liver and some blood parameters were studied.

MATERIAL AND METHODS

Tilapia (*Oreochromis niloticus*) was used as a fish material in the study. Until the trial begins, fish were fed with a commercial feed in 200x50x50 cm polyethylene tanks. Later, it was stocked as 32 pieces in each aquarium. This study was carried out in Mustafa Kemal University Faculty of Fisheries, Aquarium Unit. Aquariums were 80x40x40 cm in size and 128 liters, 90 liters of this volume have been used. The water depth in the aquariums is planned as 28.1 centimeters. The aeration system and the heaters in aquariums were operated continuously. Tap water was used in the experiment. To remove wastes from aquariums, 2/3 of the aquarium water volume was siphoned every 3 days. Then with the same amount of water, the amounts of $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ and zeolite contained in the water calculated and returned to the aquarium. Experimental groups and their contents were given in Table 1.

Table 1. Experimental groups.

	Experimental groups			Control
	Cu (mg/L)	Cu + Zeolite (mg/L)	Zeolite mg/L	
Contents	1.5	1.5 + 50	50	---

Three fish were taken from each aquarium every 30 days and a repeat has been created. The trial was carried out in one-month periods for 3 months (3 terms). Fish were fed with commercial feed containing 30% crude protein and 2600 kcal/kg metabolic energy and they were fed with 3% of their live weight in three meals a day. Fish was anesthetized with 1/20000 concentration Quinaldine and blood was drawn from the tail area. Post-anesthetized, 3 ml blood from the tail parts of fish was taken into sterile tubes

containing EDTA (2.5 mg/ml). Samples were collected individually into plastic vials and the serum separated by centrifugation at 4,000 rpm for 10 min, was then processed immediately by an automated cell analyzer (Merck-Mega/Toshiba-Japan) to analyze blood cholesterol, glucose, triglycerides, BUN (blood urea nitrogen) and LDH (lactate dehydrogenase) levels (Bricknell et al., 1999).

Liver samples of the fish from which blood samples were taken were also taken and burned in the ash furnace (Yazkan et al., 2002), ash samples were treated with acid (Ünlü & Gümgüm, 1993), and were filtered and completed to 25 ml with deionized water (Türkmen & Ögütçü, 2020). Liver samples ready for analysis were read at 324.8 nm in the ICP device and expressed as mg/kg dry weight. Crude protein determination in muscle samples of fish was analyzed by the Kjeldahl method (Duru, 2004). To test the differences between species, one-way ANOVA was performed (SPSS 21.0). A significance level was set to 0.05 for all statistical analyses.

RESULT AND DISCUSSION

The length, weight, liver weight and muscle tissue protein ratios of the fish according to the experimental groups are presented in Table 2. No death was observed during the trial period. It is seen that there is no difference between the groups in terms of initial length and weight of the samples ($p>0.05$). At the end of the experiment, the lowest value in fish weight was in the control group with 22.2 g/fish, the highest value was found in the Cu + zeolite group with 26.6 g/fish (Table 2).

Table 2. The mean values of the length, weight, liver weight and muscle tissue protein ratios of the fish according to the experimental groups.

Parameters	Experimental groups				p
	Cu	Cu+Zeolite	Zeolite	Control	
Initial weight (g)	16.7±0.5	16.6±1.0	14.3±0.5	16.2±1.4	0.28
90 th day weight (g)	24.6±4.8	26.6±3.7	24.1±3.6	22.2±5.5	0.91
Initial length (cm)	10.0±0.1	10.0±0.1	9.40±0.1	9.53±0.3	0.10
90 th day length (cm)	11.6±0.6	11.8±0.6	11.3±0.7	11.3±0.7	0.94
Initial liver weight (g)	0.15±0.0	0.20±0.0	0.13±0.0	0.15±0.0	0.19
90 th day liver weight (g)	0.51±0.1	0.48±0.1	0.60±0.1	0.61±0.0	0.80
Initial muscle tissue protein ratio (%)	12.4±1.6	10.2±1.2	10.6±1.1	11.2±0.2	0.52
90 th day muscle tissue protein ratio (%)	8.93±0.6	9.11±0.5	7.95±0.2	9.55±0.4	0.24

The increases in the experimental groups are given in Table 3. Maximum live weight gain 10 g fish⁻¹ with copper + zeolite treatment, the lowest body weight gain in the control treatment with 6.0 g fish⁻¹ was found. Besides, at the end of the trial, the differences between the lengths and weights of the treatment groups were found to be statistically insignificant ($p>0.05$). Among the treatments, the lowest length gain was 1.60 cm in copper treatment, and the highest length gain was 1.90 cm in the zeolite treatment. Both body weight and liver weight

increased at the end of the trial. The highest increase in liver weight gain was determined in the zeolite group with 0.47 g fish⁻¹ and the lowest in the copper + zeolite group with 0.28 g fish⁻¹. At the end of the trial, a decrease in muscle tissue protein level was observed in all groups. The highest change in length was observed in the zeolite group with 20.2% and the lowest in the copper group with 16.0% (Table 3). The maximum weight change was observed in the zeolite group with 68.5% and the least in the control group with 37.0%. Although the percentage of weight change of fish exposed to copper only is higher than the control treatment, it is lower than the zeolite and copper + zeolite treatments. Also, the copper + zeolite treatment showed an improvement close to only the zeolite treatment, with a 60.2% weight gain change. The least change in protein level occurred in the copper + zeolite treatment with a decrease of 1.04%, and the most change in the copper treatment with a decrease of 3.44%.

Table 3. Changes in trial groups after 90 days of study.

Parameters	Experimental groups			
	Cu	Cu +Zeolite	Zeolite	Control
Body weight gain (g)	7.90	10.0	9.80	6.00
Length gain (cm)	1.60	1.80	1.90	1.77
Liver weight gain (g)	0.36	0.28	0.47	0.46
Muscle protein ratio change (%)	-3.44	-1.04	-2.67	-1.62
Weight change (%)	47.3	60.2	68.5	37.0
Length change (%)	16.0	18.0	20.2	18.6

At the end of the experiment, protein ratios were found as 8.93% in copper treatment, 9.11% in copper + zeolite treatment, 7.95% in zeolite treatment, and 9.55% in the control treatment. In a trial conducted on fish exposed to lethal doses of copper, the carcass protein ratios of the groups treated with 0.15 ppm, 0.30 ppm, 0.50 ppm and 0 ppm copper in water were reported as 14.94; 14.95; 14.82 and 15.18. The researchers reported that a decrease in protein due to an increase in copper concentration in water at the end of the experiment was statistically significant for the carcass protein ratio (Alı et al., 2003). Proportions of protein obtained in this study were lower than the values reported by Alı et al., (2003). The amount of crude protein ratio in fish meat varies according to the type, age, sex, feeding environment, breeding and migration seasons of the fish. The amount of protein in fish meat varies between 15-24% (Gülyavuz & Ünlüsayın, 1999).

Copper Accumulation: Copper accumulation in the liver levels obtained at the end of the trial according to the experimental groups were presented in Table 4. The lowest copper accumulation was observed in the zeolite group (50 mg/L zeolite) and similar to the control group, but statistically different from the copper and copper + zeolite groups ($p<0.05$). On the other hand, the highest accumulation was observed in the group exposed to 1.5 mg/L Cu. Heavy metals increased the total protein

concentration in tissues with high metabolic activity. It has been reported that while the total protein ratio of the liver tissue increases in *O. niloticus* exposed to copper, the total protein ratio of the muscle tissue decreases (Kalay & Erdem, 2003).

Table 4. Copper accumulation in the liver according to the experimental groups (ppm dry w.).

	Experimental groups			
	Cu	Cu +Zeolite	Zeolite	Control
Accumulation	12,6±2.87 ^b	10,8±5.27 ^b	1,27±0.39 ^a	1,33±0.13 ^a
	10,8±5.27 ^b			
	1,27±0.39 ^a			
	1,33±0.13 ^a			

Horizontally, different letters show statistically significant differences between groups (p<0.05).

This situation was similar to our findings. In a study, the copper accumulation in the liver was reported as 16.27 ppm, 24.41 ppm, 38.34 ppm, and 10.92 ppm, respectively (Alı et al., 2003). These reported values are different from our findings. This may be due to differences in water quality parameters (pH, alkalinity, and hardness), fish weights, copper exposure time, and copper concentrations added to the water. Water containing high levels of copper causes vomiting, diarrhea, nausea, and cramps. It accumulates mostly in the liver, kidney, stomach, lung, intestine, heart, brain and adrenal gland (ATSDR, 2003). Also; copper, an essential element for the enzyme system in fish, is toxic at high concentrations. Higher levels of copper in the water cause fish species to consume oxygen faster. It also binds to the structure of proteins containing histidine, cysteine and methionine, preventing them from fulfilling their functions. The primary target for copper in water is the fish's large surface area gills (Van Heerden et al., 2004).

In another study conducted to examine the effect of zeolite and copper on tilapia, 2.14 mg/L copper was added to the water. At the end of the 90th day, liver copper accumulation was 8.63 ppm in tilapia exposed only to copper, while it was observed that liver copper accumulation decreased significantly with increasing rates of zeolite. In the same study, it was also reported that copper ratios of tilapia exposed to copper and zeolite decreased significantly over time (James & Sampath, 2003). This situation is similar to our findings. In a study conducted on carp fish, protection from lead toxicity was investigated by adding zeolite to the water, and no statistically significant difference was found between treatments in liver weight and weight gain at the end of the trial (Tepe et al., 2004). In our study, the addition of zeolite caused a decrease in liver copper accumulation.

Blood parameters: Three-period analyses results of blood parameters according to the experimental groups are given in Table 5. Blood Urea Nitrogen, LDH, and glucose levels generally showed an increasing trend in all experimental groups depending on the time. On the other

hand, cholesterol levels showed an increase in the copper and copper + zeolite group, and a decrease in the zeolite group, depending on time. BUN was the lowest in all periods in the control group and the highest in the Cu + zeolite group on the 90th day. LDH was lowest in the control group on the 30th day and the highest in the zeolite group on the 90th day. The glucose levels were the lowest in the Cu + zeolite group on the 30th day and the highest on the 90th day in the zeolite group. Cholesterol levels were lowest in the control group on the 30th day and the highest on the 90th day in the zeolite group. Triglyceride levels were the lowest in the copper + zeolite group and the highest in the copper group on the 90th day.

Table 5. Results of blood parameters according to trial periods and groups.

Blood Parameters/Periods	Experimental groups			
	Cu	Cu + Zeolite	Zeolite	Control
BUN (mg dl ⁻¹)				
30 th day	2.30±0.0 ^a	2.40±0.0 ^a	1.90±0.0 ^a	2.10±0.0 ^a
60 th day	2.60±0.0 ^a	2.70±0.0 ^a	2.00±0.0 ^a	2.10±0.0 ^a
90 th day	2.80±0.0 ^a	2.90±0.0 ^a	2.20±0.0 ^a	2.10±0.0 ^a
LDH (µg dl ⁻¹)				
30 th day	864±4.05 ^a	893±1.76 ^a	1268±1.45 ^a	772±1.45 ^a
60 th day	1102±1.76 ^a	974±2.30 ^a	1492±1.45 ^a	795±1.45 ^a
90 th day	1366±2.40 ^a	1010±.57 ^a	1528±1.15 ^a	800±0.88 ^a
Glucose (mg dl ⁻¹)				
30 th day	122±0.67 ^a	108±0.88 ^a	160±1.16 ^a	134±1.76 ^a
60 th day	135±1.20 ^a	129±0.88 ^a	160±0.58 ^a	137±1.16 ^a
90 th day	148±0.88 ^a	141±0.88 ^a	162±0.57 ^a	137±0.66 ^a
Cholesterol (mg dl ⁻¹)				
30 th day	134±0.88 ^a	122±1.45 ^a	128±0.67 ^a	95±0.88 ^a
60 th day	123±0.88 ^a	112±1.16 ^a	138±0.58 ^a	100±0.68 ^a
90 th day	112±0.58 ^a	100±0.58 ^a	141±0.58 ^a	98±0.58 ^a
Triglyceride (mg dl ⁻¹)				
30 th day	59.67±2.60 ^a	55.33±3.33 ^a	56.33±2.73 ^a	69.33±4.18
60 th day	57.33±1.20 ^a	62.00±1.15 ^a	51.67±0.33 ^a	59.67±0.88
90 th day	73.00±0.58 ^a	50.67±0.33 ^a	53.67±0.33 ^a	59.00±0.58

Horizontally, different letters show statistically significant differences between groups (p<0.05).

The fact that all blood parameters are at the maximum level on the 90th day can be explained by the stress that may be caused by the long-term retention of fish in aquariums. It has been reported that stress increases the blood glucose level significantly and the carbohydrate content of diets with different sources affects the blood glucose level (Yıldırım et al., 1999).

It is known that heavy metal pollution causes stress in fish and stress-related changes occur in metabolism. Stored in the muscle and liver tissues of fish, glycogen is used to meet the urgent energy requirement under stress. It has been reported that non-lethal concentrations of copper in fish such as trout (*Oncorhynchus mykiss*) and carp (*Cyprinus carpio*) decrease glycogen levels in muscle and liver tissues and increase blood glucose levels (Cicik, 2003). The blood parameters obtained by analyzing the blood samples taken from the fish on the 90th day of the experiment are given in Table 6. The differences between experimental groups were found to be statistically significant for all parameters (p<0.05). The control group was lower than the other groups for LDH and cholesterol. The lowest BUN levels

were observed in the zeolite group and the highest in the copper + zeolite group.

Table 6. The blood parameters obtained according to the experimental groups on the 90th day of the trial.

Blood Parameters	Experimental groups			
	Cu	Cu+Zeolite	Zeolite	Control
BUN (mg dl ⁻¹)	2.57±0.07 ^b	2.67±0.07 ^b	2.03±0.04 ^a	2.10±0.00 ^a
LDH (µg dl ⁻¹)	1111±72 ^c	959±17 ^b	1429±40 ^d	789±4.4 ^a
Glucose (mg dl ⁻¹)	135±3.78 ^b	126±4.73 ^a	160±0.44 ^c	136±0.73 ^b
Cholesterol (mg dl ⁻¹)	123±3.15 ^c	111±3.23 ^b	136±2.04 ^d	97.9±0.81 ^a
Triglyceride (mg dl ⁻¹)	65.3±2.58 ^b	56.0±1.94 ^a	53.9±1.05 ^a	62.7±2.08 ^b

^aHorizontally, different letters show statistically significant differences between groups (p<0.05).

The highest levels of LDH, glucose and cholesterol were observed in only zeolite added group. On the other hand, the highest triglyceride level was observed in the copper added group and the lowest in the zeolite group. Triglyceride is the most common form of lipids stored in adipose tissue and is the main source of energy. Triglyceride is synthesized in the intestinal mucosa and liver by digestion and absorption of lipids in food content (Atamanalp et al., 2003).

In one study, blood cholesterol levels were reported as 104.5 mg dl⁻¹ for control, 239 mg dl⁻¹ for lead-only treatment, 171.5 mg dl⁻¹ for zeolite + lead, and 164.5 mg dl⁻¹ for zeolite alone. However, it has been reported that lead alone treatment caused a statistically significant increase in LDH and cholesterol levels compared to the control treatment (Tepe et al., 2004).

This situation is similar to our study, and our findings for glucose and cholesterol were lower than Tepe et al., (2004) findings. In a study by Hussein et al. (1996) on *Tilapia* (*O. niloticus*) weighing an average of 38.46 g, BUN, cholesterol, and glucose levels were reported as 8.41 mg dl⁻¹, 161.3 mg dl⁻¹, and 52.3 mg dl⁻¹, respectively (Chen et al., 2003). The BUN and cholesterol levels of this study were high and the glucose level was low in our study.

In a study conducted on tilapias, glucose was found to be the lowest 52 mg dl⁻¹, the highest 156 mg dl⁻¹, the lowest cholesterol 162 mg dl⁻¹, the highest 440 mg dl⁻¹ and the BUN value of 2 mg dl⁻¹ (Chen et al., 2003). When compared with the values of our study, glucose levels are consistent with the mentioned study. The cholesterol level was found to be lower than the study mentioned. The BUN level was found to be compatible with the control and zeolite treatments, higher than the copper and copper + zeolite treatment. Prolonged exposure to copper in tilapia fish may cause liver glycogen to be transported into blood glucose. Glucose, cholesterol, and BUN values indicate short-term exposure to copper, and low levels indicate long-term copper exposure (Straus, 2003). The findings of our trial point to long-term copper exposure. The most easily used carbohydrate by fish is glucose and the only sugar found in the blood (Hoşsu et al., 2001). Blood glucose is stored in the livers of fish as glycogen and converted into glucose when the organism needs it and fed

into the blood (Başusta, 2005). With the breakdown of glucose, the energy needed to maintain vital activities is provided (Hoşsu et al., 2001). Mostly, the pollution of the environment in which the fish lives or the stress factor that occurs due to any reason causes the muscle activity in the fish to increase. Accordingly, the amount of blood glucose increases (Başusta, 2005). It has been reported that although the blood glucose level of fish rises suddenly after feed intake, it needs a long time to decrease to the same level again and is also affected by heavy metals and feed composition (Erdoğan et al., 2000; Yıldırım et al., 2000; Şahan & Cengizler, 2003).

CONCLUSION

In this study, the effects of zeolite on the accumulation of copper in fish and its toxicity on some blood parameters were investigated by adding 1.5 mg/L and 50 mg/L zeolite to the aquatic environment with tilapias. The highest body weight gain was found in the zeolite treatment with 68.5% and the lowest in the control treatment with 37.0%. This may be an indication that fish develop better in the presence of zeolite in the environment. The highest decrease in muscle tissue protein ratios was found in the copper group and the least decrease in the copper + zeolite group. This can be explained by the fact that zeolite added to water causes an improvement in the ratio of muscle tissue protein in fish exposed to copper. Liver copper accumulation decreased in copper + zeolite treatment compared to copper treatment, but this decrease was not statistically significant (p> 0.05). This can be thought to be caused by differences in water quality (pH, alkalinity, hardness and salinity), fish weights, copper exposure time, and concentrations of copper in water. Cholesterol level decreased in copper and copper + zeolite treatments throughout the trial. This situation may be caused by the copper in the environment. On the other hand, it increased during the trial in zeolite treatment. The statistical similarity between the copper + zeolite treatment and the control treatment at the end of the experiment can be explained by the adaptation of the fish to the environment. Although the cholesterol level gradually decreases in the copper + zeolite treatment with copper, the copper treatment is higher than the copper + zeolite treatment when the cholesterol level is examined regardless of the periods during the trial. From this situation, it can be concluded that zeolite facilitates the adaptation

process of fish. The increase in the triglyceride level during the experiment in copper treatment may mean that the triglyceride, which is the main energy source of metabolism, cannot be used in the required amount, or it can be explained as the copper in the environment binds to the structure of some proteins and causes them to fail their functions. The decrease of triglyceride during the trial in the zeolite treatment may mean that the energy requirement in the presence of the zeolite is provided from the triglyceride, while the triglyceride level first increases and then decreases in the copper + zeolite treatment can be explained by the presence of adaptation to ambient conditions. Although the LDH level increased in all treatments throughout the trial, the control group increased the least, with the highest increase in the copper group. However, the fact that copper + zeolite treatment is lower than the groups exposed to copper and zeolite may be related to the adaptation process of the fish to the environment containing copper. The higher LDH in the zeolite and copper exposed groups over the other two treatments during the trial may indicate the presence of stress in both treatments. Because in addition to natural factors such as water quality, nutritional status and reproduction, it is reported that factors such as capture stress, anesthesia method, blood collection method can change the blood parameters of cold blooded animals. It is also known that the blood glucose level may vary between species (Aydın et al., 2000).

When the results of the research are evaluated, it can be said that the zeolite added to the water does not have an adverse effect on the development of tilapia fish exposed to copper in a non-lethal concentration. On the other hand, it can be said that in aquatic environments with copper pollution, zeolite can be used to support the removal of the pollution from the environment and also that aquaculture can be done in these environments without harming the health of the fish.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank to Mustafa Kemal University for financially supporting this study (Project No: 04 M 1702).

REFERENCES

Akyurt, İ. (2004). *Balık Besleme*. Mustafa Kemal Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Ders Kitapları No: 3, 226.

- Alfin-Slater, R. & Howton, D. (1993). *Lipids, Chemistry, Biochemistry and Nutrition*. Plenum Pub., N.Y.
- Alı, A., Al-Ogaily, S.M., Al-Asgah, N.A. & Gropp, J., (2003). Effect of Sublethal Concentrations of Copper on The Growth Performance of *Oreochromis niloticus*. *Journal of Applied Ichthyology*, **19**, 183-188.
- Atamanalp, M., Haliloğlu, H.İ., Ayık, Ö., Cengiz, M., Özdemir, N. & Bektaş, S. (2003). Üç farklı çiftlikten elde edilen gökkuşağı alabalıkları (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792)'nin kan biyokimyası parametrelerinin karşılaştırılması. *XII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Elazığ*, 238-240.
- ATSDR. (2003). Agency For Toxic Substances And Disease Registry, <http://www.atsdr.cdc.gov/toxfaq.html>.
- Aydın, S., Yıldırım, A. & Erdoğan, O. (2000). Aras nehrinde yaşayan *Capoeta Capoeta Capoeta* (Güldenstaedt, 1772)'nin kan glikoz düzeyindeki aylık değişimler. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **24**, 523-528.
- Başusta, A.G. (2005). *Balık Hematolojisi ve Hematolojik Metodlar*. (M. Karataş, Editör). Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri. Nobel Yayın, 772, 498, Ankara.
- Boyd, C.E. & Tucker, C.S. (1998). *Pond Aquaculture Water Quality Management*. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University, Alabama.
- Bricknell, I.R., Bowden, T.J., Bruno, D.W., MacLachlan, P., Johnstone, R. & Ellis, A.E. (1999). Susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.) to infection with typical and atypical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, **175**(1-2), 1-13.
- Chen, A.C.Y., Wooster, G.A., Getchell, R.G., Bowser, P.R. & Timmons, M.B. (2003). Blood chemistry of healthy, nephrocalcinosis-affected and ozone-treated tilapia in a recirculation system, with application of discriminant analysis. *Aquaculture*, **218**, 89-102.
- Chen, H., Li, J., Yan, L., Cao, J., Li, D., Huang, G.Y., Shi, W.J., Dong, W., Zhad, J., Ying, G.G., Zhong, H., Wang, Z., Huang, Y., Luo, Y. & Xie, L. (2020). Subchronic effects of dietary selenium yeast and selenite on growth performance and the immune and antioxidant systems in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fish and Shellfish Immunology*, **97**, 283-293.
- Cicik, B. (2003). *Cyprinus Carpio* (L.)'da Bakırın Kas ve Karaciğer Dokularındaki Glikojen Stokları ile Serum Glukoz Düzeyi Üzerine Etkileri. XII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Elazığ. 37-41.
- Çoğun, H.Y. & Kargin, F. (2019). *Oreochromis niloticus*'un solungaç dokusu iyon düzeyleri üzerine kurşunun etkisi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(1), 22-26.
- Çoğun, H.Y. & Kargin, F. (2020). *Cyprinus carpio*'da bakırın solungaç dokusunda birikimi ve Na/K iyon düzeylerine etkisi. *Journal of Anatolian*

- Environmental and Animal Sciences*, 5(3), 313-317.
- Duru, M. (2005).** *Yohimbe Bark (Pausinystalia yohimbe) ve Demir Dikeni (Tribulus terrestris) Ekstratlarının Etlik Cıvcıvlerde Büyüme Performansı ve Vucut Bileşimi Üzerine Etkilerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay, 62s.
- Erdoğan, O., Çiltaş, A. & Türkmen, M. (2000).** Karasu Irmağı'nda yaşayan tatlı su kefali (*Leuciscus cephalus orientalis*, Nordmann,1840)' nin kan glikoz düzeyi üzerine üreme ve su sıcaklığının etkisi. *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu*, 113-122, Erzurum.
- Fialkowski, W. & Newman, W.A. (1998).** A Pilot Study of Heavy Metal Accumulations in a Barnacle From The Salton Sea, Southern California. *Marine Pollution Bulletin*, 36(2), 138-143.
- Fırat, Ö. & Şahin İnandı, A. (2016).** *Oreochromis niloticus*'ta Cıvanın Biyokimyasal Toksisitesi ve Bu Toksisite Üzerine Zeolitin Koruyucu Etkisi. *Turkish Journal of Aquatic Sciences*, 31(2), 86-95.
- Gülyavuz, H. & Ünlüsayın, M. (1999).** *Su Ürünleri İşleme Teknolojisi*. Şahin Matbaası, Ankara.
- Hoşsu, B., Korkut, A.Y. & Fırat, A. (2001).** *Balık Besleme ve Yem Teknolojisi I*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No: 50, Ders Kitabı Dizini No: 19, 295, İzmir.
- James, R. & Sampath, K. (2003).** Removal of Copper Toxicity by Zeolite in Java Tilapia *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Bulletin Environmental Contamination & Toxicology*, 71, 1184-1191.
- Kalay, M. & Erdem, C. (2003).** *Tilapia nilotica*'da Kadmiyum Birikiminin Total Protein Düzeyine Etkisi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27, 1367-1374.
- Mutlu, E., Aydın, S., Demir, T. & Yanık, T. (2016).** Effect of Zeolite and Copper Sulfate, Administered Alone and in Combination on the Biochemical Components of Blood Serum of Common Carp, *Cyprinus carpio*. *Pakistan Journal of Zoology*, 48(6), 1857-1863.
- Oğuztürk, O., Çiftçi, N. & Cıçık, B. (2018).** Effects of natural adsorbent clinoptilolite on some hematological parameters of *Cyprinus carpio*. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(4), 455-462.
- Park, J.B., Lee, S., H., Lee, J.W. & Lee, C.Y. (2002).** Lab Scale Experiments for Permeable Reactive Barriers against Contaminated Groundwater with Ammonium and Heavy Metals Using Clinoptilolite. *Journal of Hazardous Materials*, 95, 65-79.
- Straus., D.L. (2003).** The Acute Toxicity of Copper to Blue Tilapia in Dilutions of Settled Pond Water. *Aquaculture*, 219, 233-240.
- Şahan, A. & Cengizler, İ. (2003).** Seyhan Nehri (Adana Kent İçi Bölgesi)' nde Yaşayan Adi Sazan (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758) ve Bıyıklı Balık (*Barbus rajanorum*, Heckel, 1843)' ta Bazı Hematolojik Parametrelerin Belirlenmesi. *XII. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, Elazığ, 196-201.
- Tepe, Y., Akyurt, İ., Ciminli, C., Mutlu, E. & Çalışkan, M. (2004).** Protective effect of clinoptilolite on lead toxicity in common carp (*Cyprinus Carpio*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 13(7), 639-642.
- Türkman, A., Aslan, Ş. & Ege, İ. (2001).** Doğal Zeolitlerle Atıksulardan Kurşun Giderimi (Lead Removal From Wastewaters By Natural Zeolites). *DEÜ Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(2), 13-19.
- Türkmen, M., Erdoğan, O. & Haliloğlu, H.İ. (2000).** Karasu Irmağı'nın Aşkale Mevkii'nden *Capoeta capoeta umbra* (Heckel,1843) Balığının Kan Glikoz Düzeyi Üzerine Bir Araştırma, *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su ürünleri Sempozyumu*, 251-260, Erzurum.
- Türkmen, M. & Ögütçü, B. (2020).** Assessment of Heavy Metals in Selected Fish Species from Markets in the Black Sea Region of Turkey. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(4), 636-639.
- Ünlü, E. & Gümgüm, B. (1993).** Concentrations of Copper and Zinc in Fish and Sediments From The Tigris River in Turkey. *Chemosphere*, 26(11), 2055-2061.
- Van Heerden, D., Tiedt, L.R. & Vosloo, A. (2004).** Gill Damage in *Oreochromis mossambicus* and *Tilapia sparrmanii* After Short-Term Copper Exposure. *International Congress Series*, 1275, 195-200.
- Watson, C. & Yanong R.P.E. (2002).** *Use of Copper in Freshwater Aquaculture and Farm Ponds*. Department Of Fisheries and Aquatic Sciences, Florida Cooperative Extension Service, Institute Of Food And Agricultural Sciences, University Of Florida.
- Yazkan, M., Özdemir, F. & Gölükçü, M. (2002).** Antalya' da Avlanan Bazı Balık Türlerinde Cu, Zn, Pb ve Cd İçeriği. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 1309-1313.
- Yıldırım, A., Türkmen, M. & Altuntaş, İ. (1999).** The seasonal variation in blood glucose levels in barbel, *Barbus plebejus escherichi* (Steindachner, 1897), living in Çoruh Basin-Oltu Stream. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 23, 373-378.
- Yıldırım, A., Türkmen, M. & Altuntaş, İ. (2000).** Çoruh Nehri Oltu Çayı'nda Yaşayan *Capoeta tinca* (Heckel, 1843)'nın Kan Glikoz Düzeyindeki Aylık Değişimler. *Turkish Journal of Biology*, 24, 49-56.



Toprak ve Bitkilerde Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması: Bayburt İli Örneği

Sinan KUL^{1*} Volkan GÜL² İbrahim CENGİZ³

¹ Bayburt Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Acil Yardım ve Afet Yönetimi Bölümü, Bayburt, Türkiye

² Bayburt Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, Bayburt, Türkiye

³ Bayburt Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Acil Yardım ve Afet Yönetimi Bölümü, Bayburt, Türkiye

Geliş Tarihi: 22.12.2020

Kabul Tarihi: 31.03.2021

Basım Tarihi: 30.06.2021

Atıf yapmak için: Kul, S., Gül, V. & Cengiz, İ. (2021). Toprak ve Bitkilerde Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması: Bayburt İli Örneği. *Anadolu Çev. ve Hayv. Dergisi*, 6(2), 195-203.

How to cite: Kul, S., Gül, V. & Cengiz, İ. (2021). Investigation of Heavy Metal Pollution in Soil and Plants: The Case of Bayburt Province. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 195-203.

*ID: <https://orcid.org/0000-0002-7824-756X>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-4899-2822>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-3171-6629>

***Sorumlu yazarın:**

Sinan KUL
Bayburt Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler
Fakültesi, Acil Yardım ve Afet Yönetimi
Bölümü, Bayburt, Türkiye
✉: sinankul@bayburt.edu.tr

Öz: Alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan bitkilerden biri olan sarı kantron (*Hypericum perforatum* L.) karayolları güzergahlarında yaygın olarak yetişmek, ancak insallar tarafından çevre kirliliğinin yaratabileceği olumsuz etkiler dikkate alınmadan, bilinçsiz bir şekilde toplanarak tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Bu çalışma, Bayburt ilinde yol kenarlarında doğal olarak yetişen *Hypericum perforatum* L. ve yetiştiği toprağın çevresel faktörlere bağlı olarak ağır metal kirliliğini belirlemek amacıyla yürütülmüştür. Bu amaçla, *Hypericum perforatum* L. bitkisinin yoğun olarak yetiştiği ana bağlantı yolları boyunca 10 farklı noktadan bitki ve toprak örnekleri alınmış ve bu örneklerde Agilent 7800 ICP-MS marka endüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi kullanılarak Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd ve Pb ağır metallerinin analizleri yapılmıştır. Örneklerin analizleri sonucunda numune alınan bütün noktalarda en yüksek konsantrasyonlar Mg için ölçülmüştür. Bitki örneklerinin ağır metal içeriği incelendiğinde, yerleşim birimlerinin etkisinde ve Bayburt-Erzincan karayolu üzerinde bulunan A9 noktasında belirlenen Zn haricinde diğer elementlerin normal sınırlar içerisinde olduğu, toprak örneklerinin ağır metal içeriği incelendiğinde ise şehir merkezinde ve Erzurum-Trabzon karayolu üzerinde bulunan A1 ve A2 noktalarında belirlenen Ni haricinde diğer ağır metallerin sınır değerlerin altında olduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler sanayileşmenin olmadığı Bayburt ilinde ağır metal kirliliğinin gözardı edilmemesi ve bu tür çalışmaların belirli sıklıklarda tekrarlanarak kirlenmenin arttığı bölgelerde uygun doğal arıtma yöntemlerinin belirlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Ağır metaller, Bayburt, *Hypericum perforatum* L., sarı kantaron, karayolları.

Investigation of Heavy Metal Pollution in Soil and Plants: The Case of Bayburt Province

Abstract: Yellow canthron (*Hypericum perforatum* L.), one of the plants widely used in alternative medicine, is widely grown on highways, but it is unconsciously collected and used for treatment by people without considering the negative effects of environmental pollution. This study was conducted to determine the heavy metal pollution of *Hypericum perforatum* L., which grows naturally on the roadside in Bayburt province, and the soil where it grows, depending on environmental factors. For this purpose, plant and soil samples were taken from 10 different points along the main connection roads where the *Hypericum perforatum* L. plant is densely grown and in these samples, using Agilent 7800 ICP-MS brand inductively coupled plasma mass spectrometer, Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, The heavy metals of Cu, Zn, Cd and Pb were analyzed. As a result of the analysis of the samples, the highest concentrations were measured for Mg at all sampled points. When the heavy metal content of the plant samples was examined, it was found that other elements except Zn determined at the A9 point on the Bayburt-Erzincan highway were within normal limits, under the influence of the settlements, and when the heavy metal content of the soil samples was examined, it was determined at the A1 and A2 points on the Erzurum-Trabzon highway It has been determined that other heavy metals except Ni are below the limit values. The data obtained show that heavy metal pollution should not be ignored in the province of Bayburt, where there is no industrialization, and that such studies can be used to determine the appropriate natural treatment methods in regions where pollution is increased by repeating certain studies.

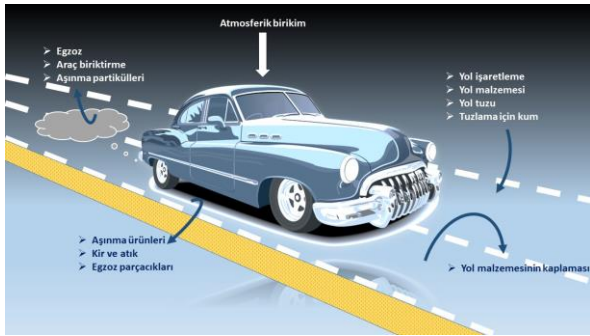
***Corresponding author's:**

Sinan KUL
Bayburt University, Applied Science Faculty,
Department of Emergency Aid and Disaster
Management, Bayburt, Turkey
✉: sinankul@bayburt.edu.tr

Keywords: Bayburt, heavy metals, highways, *Hypericum perforatum* L., St. John's Wort.

GİRİŞ

Geçmişten günümüze artan nüfusa bağlı olarak klasik yaşam modelinden sanayileşmiş yaşam modeline geçiş hız kazanmıştır. Her ne kadar sanayileşme ve modern tarıma geçiş insanların işini kolaylaştırırsa da doğal kaynakların tahrip edilerek kirlenmesine ve büyük çevre sorunlarına neden olmuştur. Meydana gelen kirlenme toprakların bozulmasına, bitkilerin gelişimine bağlı olarak verimin azalmasına ve bitkilerde oluşan toksik etki nedeniyle doğada bulunan canlı ve insan varlığını ciddi anlamda tehlikeye sokmaktadır. Şekil 1’de görülebileceği üzere özellikle yol kenarlarında veya yola yakın yerlerde yetişen ve alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan tıbbi ve aromatik bitkiler trafik kaynaklı egzoz gazları, teker ve araç aşınmaları, çevrede bulunan maden ocakları, bilinçsiz yapılan tarım faaliyetleri gibi etmenlerden dolayı bir takım kirlenmeye maruz kalmaktadırlar (Çelebi & Gök, 2018; Dawson, 2008). Ağır metale maruz kalan bitkilerin canlılar tarafından kullanımı küçük dozda bile olsa ciddi sağlık problemlerine neden olmaktadır (Arıcak vd., 2020; Kırbağ Zengin, 2006; Sevik vd., 2020).



Şekil 1. Karayollarında oluşan kirlenmeler ve kaynakları
Figure 1. Highways pollutants and their sources

Değişik jeolojik oluşumlara bağlı olarak toprak bünyesinde belirli oranlarda değişik elementler bulunsun da insan yoğunluğu ve aktivitelerine bağlı olarak topraktaki element yoğunluğu artış gösterebilmektedir. Yoğunluğu 5 g cm⁻³’ten fazla olan elementlere ağır metal denilmektedir. Topraklarda oluşan başlıca ağır metaller ise Arsenik (As), Krom (Cr), Kadmiyum (Cd), Bakır (Cu), Kurşun (Pb), Mangan (Mn), Civa (Hg), Çinko (Zn), Molibden (Mo), Nikel (Ni) ve Selenyum (Se) elementleridir (Zincircioğlu, 2013).

Alternatif tıpta yaygın olarak travma, yanık, romatizma, ağrı, gastroenterik histeri, depresyon, enflamasyon, anksiyete ile bakteriyel ve viral enfeksiyonların tedavisi için geleneksel ilaç olarak kullanılan bitkilerden bir tanesi olan kantaron genellikle yol kenarları ve yola yakın bölgelerde yetişmektedir (Bouyahya vd., 2019; Božunović vd., 2018; Çakmak & Bayram, 2003). Çiçeklenme döneminde toplanan bitki saf zeytinyağı içerisinde özü çıkarılmak suretiyle kantaron yağı elde

edilmektedir. Ayrıca kurutulmuş çiçekleri çay olarak demlenip içilebilmektedir. Bu noktada toplandığı çevre kirliliğine bağlı olarak kantaron yağına ve çayına bu ağır metaller bulaşabilmektedir.

Toprak kirliliğine neden olan trafik kaynaklı etmenler günümüzde büyük önem kazanmıştır. Yapılan birçok araştırma sonuçları araç geçişinin yoğun olduğu yerlerdeki topraklarda ağır metal birikimi yüksek olurken uzaklaşmaya bağlı olarak azalmaya başlamıştır (Morse vd., 2016; Uwah & John, 2014; Varol, 2011; Zhaoyong vd., 2015). Çevresel kirliliğe bağlı olarak topraklarda yetişen bitkilerin çimlenme, fotosentez, hormonal denge gibi faaliyetleri olumsuz etkilendiğinden gelişimi ve verimi azalmakta, bu topraklardan gelen bitkisel ve hayvansal besin zinciri ile biriken ağır metaller insanlara ulaşmaktadır (Kılıç vd., 2014; Yu vd., 2012). Ağır metallere maruz kalan insanların vücut yapısına bağlı olarak kanser gibi çok ciddi sağlık problemlerine neden olabilmektedir (Guo vd., 2011). Bir takım ağır metalin insan sağlığını olumsuz etkilediği ve çevrede her geçen gün bu ağır metallerin artış gösterdiği yapılan birçok araştırma ile belirlenmiştir (Bernhoft, 2012; Wani vd., 2015). Bu tarz kirlenmiş ortamlarda yetişen tıbbi ve aromatik bitkilerin toplanarak tedavi amaçlı değişik şekillerde kullanılması ile insan vücudunda ağır metal birikiminin değişik sağlık sorunlarına neden olabileceği araştırmacıları tedirgin etmektedir (Sarma vd., 2012). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve ABD Çevre Koruma Ajansı’nın (US EPA) belirlemiş olduğu bitkilerde ve toprakta müsaade edilen ağır metal sınır değerleri Tablo 1’de verilmiştir (Ediene & Umoetok, 2017; Onyedikachi vd., 2018; Özkan, 2017). Ayrıca ölçümü yapılan ağır metallerden Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu ve Zn bitki ve hayvanlar için gerekli iken Cr, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd ve Pb ise kirlenmeye değerlendirebilmektedir (Okcu vd., 2009).

Günümüzde nüfus artışına bağlı olarak trafik yoğunluğu, toprakların ve civarda bulunan bitki örtüsünün yüksek oranda ağır metal ile kirlenmesi önemli bir konu haline gelmiştir. Ülkemiz alternatif tıpta kullanılacak zengin bir tıbbi ve aromatik bitki örtüsüne sahiptir. Dolayısı ile doğadan toplanan bu tür bitkilerin güvenilir bir şekilde kullanılabilmesi için metal içeriklerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bayburt gibi sanayileşmenin ve konvansiyonel tarımın yoğun olmadığı bölgelerimizde bile maden ocakları ve taşıt yoğunluğuna bağlı olarak bu tür ağır metallerinin görülebileceği göz ardı edilmemelidir. Bu bağlamda bölgesel bazda çalışmaların olmadığı dikkate alınarak Bayburt ve çevresinde bulunan yol kenarlarında doğal olarak yetişen ve tıbbi amaçlı kullanılan kantaron bitkisinden ve toplandığı yerin toprağından örnek numuneler alınarak ağır metal elementlerinin düzeylerini belirleyerek insan sağlığına olumlu veya olumsuz etkisinin belirlenmesi hususunda açıklık getirmeye çalışılmıştır.

Tablo 1. WHO/FAO ve US EPA'nın belirlemiş olduğu müsaade edilen ağır metal sınır değerleri.

Table 1. Allowed heavy metal limit values determined by WHO/FAO and US EPA.

	WHO ($\mu\text{g g}^{-1}$)		WHO ($\mu\text{g g}^{-1}$)	US EPA ($\mu\text{g g}^{-1}$)
	Yenilebilir Bitki	Bitki		Toprak
Mg	-	-	-	-
Cr	-	0,5	0,2	400
Mn	2	-	-	-
Fe	20	30	-	-
Co	-	-	-	-
Ni	-	5	5	-
Cu	3	5	12	200
Zn	47,4	50	60	300
Cd	0,21	0,5	0,5	400
Pb	0,43	2	10	300

MATERYAL VE METOT

Çalışma Alanı: Bu çalışma için çalışma alanı olarak Bayburt ili sınırları içerisinde yer alan, komşu il ve ilçelerle bağlantıyı sağlayan karayolu güzergahları seçilmiştir. 1550 m rakım ve 3739 km² yüz ölçümüne sahip Bayburt ili 40° 37' kuzey ve 39° 52' güney enlemi ile 40° 45' doğu ve 39° 37' batı boylamları arasında yer almakta olup Şekil 2'de Bayburt ilinin konumu gösterilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirildiği Bayburt ili, Doğu Karadeniz ile Doğu Anadolu'nun kesişme noktasına bulunmakta, karasal iklim özellikleri ağır basan geçiş iklimine sahip ve alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan birçok tıbbi ve aromatik bitkiyi bünyesinde barındıran bakir bölgelerimizden bir tanesidir. Her ne kadar sanayileşme ve modern tarımın yaygın olmadığı bölgelerimizden bir tanesi olsa da il sınırları içerisinde Doğu Karadeniz'i Doğu Anadolu'ya bağlayan kara yolu ve çeşitli maden yatakları yer almaktadır.

Bitki ve Toprak Numuneleri: Çalışma için kullanılacak bitki ve toprak numuneleri Bayburt ilinin çevre il ve ilçelerle bağlantısını sağlayan karayolları güzergâhından temin edilmiştir. Ağır metal içeriği değerlendirilmesi düşünülen numuneler için bu bağlantı güzergâhları üzerinde Baberti yolu (A1), Sanayi mevki (A2), Maden mevki (A3), Pamuktaş mevki (A4), Demiröz yolu (A5), Nişantaşı mevki (A6), Toki Çaykara yolu (A7), Aydıntepe mevki (A8), Mutlu köyü mevki (A9) ve Eski İspir yolu (A10) olmak üzere 10 nokta belirlenmiş, belirlenen noktaların enlem boylam değerleri Tablo 2'de, harita üzerindeki konumları ise Google Earth Pro ve ArcMap 10.8 programları kullanılarak hazırlanmış olan Şekil 2'de gösterilmiştir.

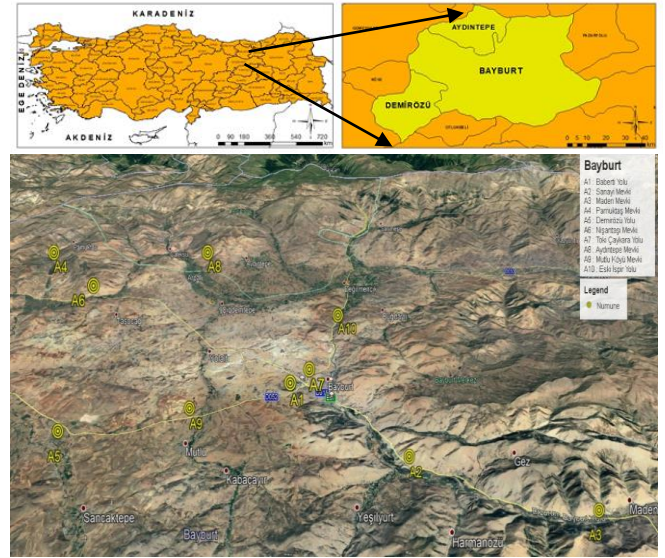
İncelenecek bitki örnekleri Bayburt ilinde bol miktarda bulunan, genellikle yol kenarlarında doğal olarak yetişen ve alternatif tıpta yaygın olarak kullanılan önemli tıbbi bitkilerden sarı kantaron olarak belirlenmiştir. Toprak numuneleri ise aynı noktalardan ve 0-30 cm derinlikten olmak üzere alınarak plastik poşetlere konulmuştur. Ölçüm için temin edilen bitki ve toprak örnekleri güneş görmeyen açık havada kurutulmuş, bitki örnekleri iyice temizlendikten

sonra bitki öğütücü değirmen makinası ile öğütülerek homojenize edilmiş ve nemini iyice kaybetmiş, toprak örnekleri ise havanda dövülerek homojen hale getirilerek analiz türüne uygun çapta çelik eleklerden geçirilerek muhafaza altına alınmıştır (Kacar vd., 2013).

Tablo 2. Örnekleme noktalarının coğrafi koordinatları.

Table 2. Geographical coordinates of the sampling points.

Gösterge	Çalışma Alanı	Örnek	Enlem (N)	Boylam (E)
A1	Baberti yolu	Bitki-Toprak	40° 15' 6,36"	40° 12' 6,60"
A2	Sanayi mevki	Bitki-Toprak	40° 12' 19,20"	40° 16' 41,49"
A3	Maden mevki	Bitki-Toprak	40° 10' 38,40"	40° 22' 43,50"
A4	Pamuktaş mevki	Bitki-Toprak	40° 23' 12,72"	39° 57' 38,64"
A5	Demiröz yolu	Bitki-Toprak	40° 13' 9,78"	40° 3' 25,14"
A6	Nişantaşı mevki	Bitki-Toprak	40° 20' 41,58"	40° 1' 9,00"
A7	TOKİ Çaykara yolu	Bitki-Toprak	40° 15' 48,30"	40° 12' 52,50"
A8	Aydıntepe mevki	Bitki-Toprak	40° 23' 21,78"	40° 6' 33,30"
A9	Mutlu köyü	Bitki-Toprak	40° 14' 4,40"	40° 8' 10,72"
A10	Eski İspir yolu	Bitki-Toprak	40° 18' 50,52"	40° 14' 8,64"



Şekil 2. Çalışma alanının Türkiye haritası üzerindeki konumu ve numune alınan noktalar.

Figure 2. The location on Turkey map of the study area and sampled points.

Kimyasal Analizler: Bayburt ilinde belirlenen 10 noktadan temin edilen bitki ve toprak örneklerinin ağır metal içeriği Agilent 7800 ICP-MS marka endüktif eşleşmiş plazma kütle spektrometresi kullanılarak belirlenmiştir. Toprak örneklerindeki ağır metaller, 1:2 (W:V)'lik DTPA çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve ICP-OES cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Bitki örneklerindeki ağır metaller; nitrik asit: hidrojen peroksit 8:2 (V:V)'lik HNO₃ ve H₂O karışımı kullanılarak mikrodalga fırında yakılmış ve ICP-OES cihazıyla analiz edilmiştir.

BULGULAR

Örnek olarak Bayburt ili ve çevresinde yol kenarlarında doğal olarak yetişen önemli bir tıbbi bitki olan kantaron bitkisi baz alınmış olup, toplamda 10 noktadan hem kantaron hem de toprak örnekleri alınarak indüktif olarak

eşleştirilmiş plazma kütle spektrometresi (ICP-MS) cihazı kullanılarak ağır metal içeriği olarak Mg, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd ve Pb element değerleri ölçülmüştür. Bu analiz

sonuçları elde edilen bitki ve toprak örneklerine ait bazı ağır metal içerikleri sırasıyla Tablo 3 ve Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 3. Bayburt ilinin farklı noktalarından alınan kantaron bitki örneklerine ait bazı ağır metal içerikleri (mg kg⁻¹).

Table 3. Some heavy metal contents of St. John's Wort plant samples taken from different parts of Bayburt province (mg kg⁻¹).

	Mg	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb
A1	2242,32	1,32	29,54	252,12	0,35	3,33	7,94	43,29	<0,000	1,48
A2	2601,3	0,37	31,39	115,74	0,35	2,03	6,92	18,95	<0,000	<0,000
A3	1740,85	0,78	33,52	264,24	0,31	1,50	8,28	8,41	<0,000	<0,000
A4	2160,36	0,61	31,45	241,38	0,38	2,17	8,72	<0,000	0,004	<0,000
A5	3682,21	0,26	29,72	251,57	0,23	0,61	11,46	<0,000	0,099	<0,000
A6	1913,38	0,19	35,76	113,35	0,24	0,42	7,79	<0,000	0,006	<0,000
A7	2514,94	1,76	27,72	296,48	0,28	0,75	15,38	2,85	0,098	0,84
A8	2508,35	1,21	29,04	368,02	0,27	1,06	12,29	100,98	<0,000	<0,000
A9	1951,12	<0,000	36,56	<0,000	0,29	1,49	9,11	223,82	0,011	0,34
A10	2464,19	<0,000	48,62	<0,000	0,69	2,33	12,69	54,11	0,054	0,48

Tablo 4. Bayburt ilinin farklı noktalarından alınan toprak örneklerine ait bazı ağır metal içerikleri (mg kg⁻¹).

Table 4. Some heavy metal contents (mg kg⁻¹) of soil samples taken from different points of Bayburt province.

	Mg	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Cd	Pb
A1	8911,50	77,47	<0,000	2677,01	7,09	133,63	12,53	<0,000	<0,000	<0,000
A2	8024,07	87,18	<0,000	<0,000	2,19	90,47	<0,000	15,75	<0,000	0,29
A3	1737,48	<0,000	11,86	2147,40	0,35	8,33	1,41	<0,000	<0,000	<0,000
A4	<0,000	4,09	63,69	22343,57	4,87	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	10,19
A5	<0,000	<0,000	373,75	<0,000	<0,000	<0,000	10,84	<0,000	0,08	28,66
A6	5162,46	<0,000	55,85	5287,42	1,43	<0,000	<0,000	<0,000	0,03	32,55
A7	5199,95	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	4,92	0,19	<0,000	0,06	9,18
A8	336,70	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	0,22	<0,000	<0,000	4,32
A9	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	1,63	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000	0,88
A10	6487,17	71,96	<0,000	<0,000	1,15	65,57	<0,000	<0,000	<0,000	<0,000

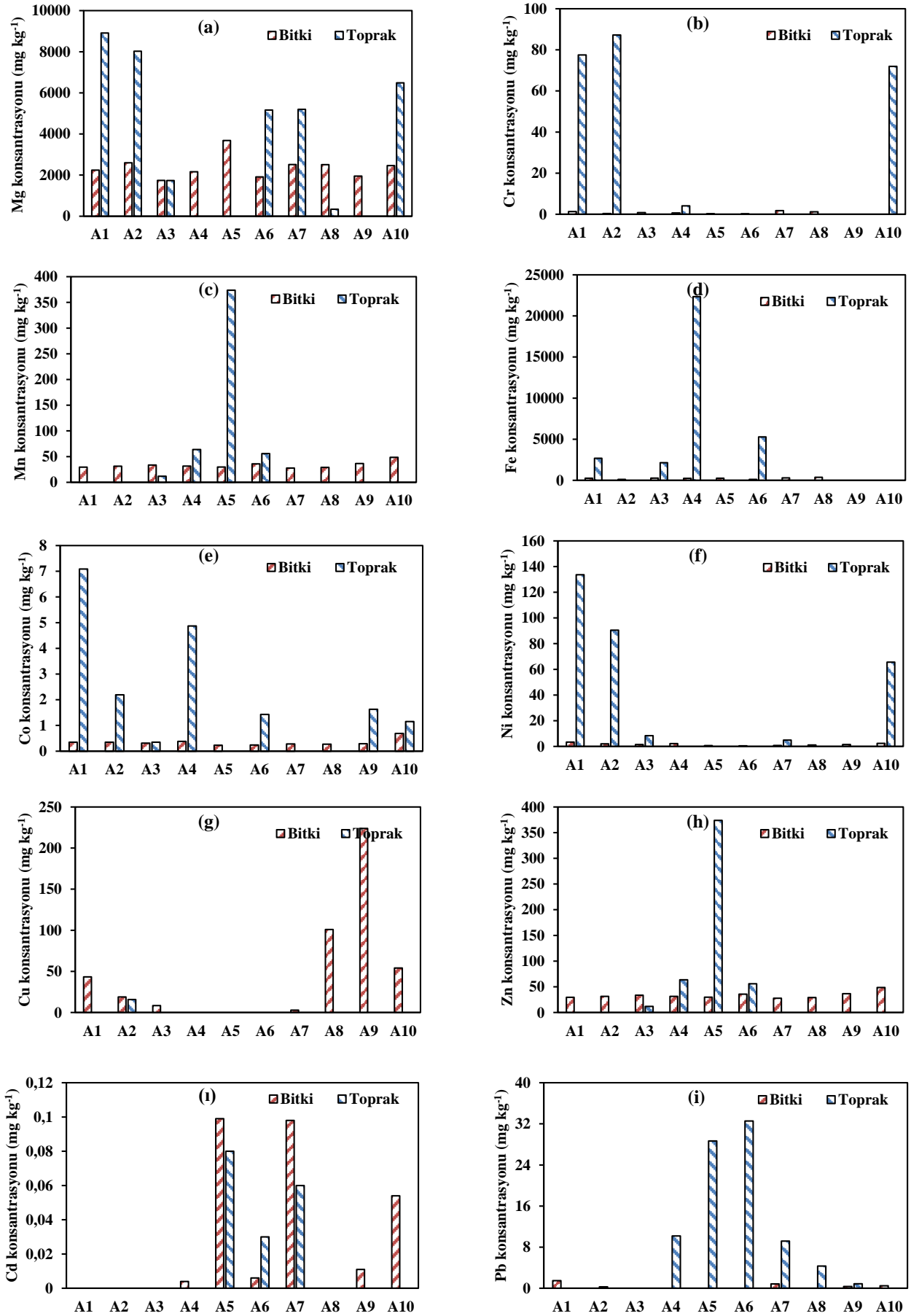
Tablo 3'ten görülebileceği üzere farklı noktalardan çiçeklenme dönemi toplanan kantaron örneklerine ait ağır metal analiz sonuçlarına göre Cr konsantrasyonları <0,000-1,76 mg kg⁻¹, Co konsantrasyonları 0,23-0,69 mg kg⁻¹, Ni konsantrasyonları 0,42-3,33 mg kg⁻¹, Cd konsantrasyonları <0,000-0,099 mg kg⁻¹ ve Pb konsantrasyonları <0,000-1,48 mg kg⁻¹ aralığında bulunmuş olup, içerikleri yok denecek kadar az veya sınır değerlerin altında olduğu belirlenmiştir. Diğer ağır metaller olan Mg, Mn, Fe, Cu ve Zn sırasıyla 1740,85-3682,21 mg kg⁻¹, 27,72-48,62 mg kg⁻¹, <0,000-368,02 mg kg⁻¹, 6,92-15,38 mg kg⁻¹ ve <0,000-223,82 mg kg⁻¹ aralığında olduğu gözlemlenmiştir. Farklı bölgelerden alınan kantaron örneklerinin tümünün ortalaması alındığında ağır metal konsantrasyonlarının kendi aralarındaki sıralaması Mg > Fe > Zn > Mn > Cu > Ni > Cr > Co > Pb > Cd olarak belirlenmiştir.

Tablo 4'te görüldüğü üzere Bayburt ilinin farklı noktalarından elde edilen toprak örneklerinin ağır metal analiz sonuçlarına göre, toprak örneklerinin ağır metal içerikleri Mg için <0,000-8911,50 mg kg⁻¹, Cr için <0,000-87,18 mg kg⁻¹, Mn için <0,000-373,75 mg kg⁻¹, Fe için <0,000-22343,57 mg kg⁻¹, Co için <0,000-7,09 mg kg⁻¹, Ni için <0,000-133,63 mg kg⁻¹, Cu için <0,000-12,53 mg kg⁻¹, Zn için <0,000-15,75 mg kg⁻¹, Cd için <0,000-0,08 mg kg⁻¹ ve Pb için <0,000-32,55 mg kg⁻¹ aralığında olduğu tespit edilmiştir. Farklı bölgelerden alınan toprak örneklerinin

tümünün ortalaması alındığında ağır metal konsantrasyonlarının kendi aralarındaki sıralaması Mg > Fe > Mn > Ni > Cr > Pb > Cu > Co > Zn > Cd olarak belirlenmiş olup Şekil 3'te bitki ve toprak numunelerinin alındığı noktalarda incelenen ağır metallerin değişimleri gösterilmiştir.

Şekil 3'te farklı bölgelerden alınan bitki ve toprak numunelerinde konsantrasyonları araştırılan ağır metallerin karşılaştırılması yapılarak değerlendirilmeye çalışılmıştır.

Bitkiler için önemli makro besin elementlerinden olan Mg elementi bitkilerin devamlılığını sağlayan anahtar elementler arasında yer almaktadır. Çoğu bitkinin gelişimi için kuru madde içeriğinin 0,1-0,4 mg kg⁻¹ aralığında olması gerekmekte iken, Mg elementinin fazlalığı diğer katyonların azlığına, iyon dengesizliğine ve verimsizliğe sebep olmaktadır (Bolat & Kara, 2017; Kacar & Katkat, 2014). Şekil 3a incelendiğinde bitki örneklerinde Mg konsantrasyonlarının 1740,85-3682,21 mg kg⁻¹ aralığında, toprak örneklerinin ise <0,000-8911,50 mg kg⁻¹ aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bitki örneklerinde yüksek miktarda Mg bulunmasının yanısıra A4, A5 ve A9 noktaları dışında yer alan toprak örneklerinde de bulunan yüksek Mg konsantrasyonları bölgede yetişen kantaron bitkileri üzerinde verimsizliğe yol açma ihtimali yüksektir.



Şekil 3. Ağır metal konsantrasyonlarının bitki ve toprak numunelerinde karşılaştırılması.

Figure 3. Comparison of heavy metal concentrations in plant and soil samples.

Cr elementi bitkiler için toksik olup, bitki metabolizması için zorunlu diğer metallerin alınmasında kullanılan taşıyıcılar ile bitki bünyesine alınmaktadır (Yıldız vd., 2011). Şekil 3b incelendiğinde bitkilerde Cr konsantrasyonları A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 ve A8 noktalarında sırasıyla 1,32, 0,37, 0,78, 0,61, 0,26, 0,19, 1,76 ve 1,21 mg kg⁻¹ olarak bulunmuş A9 ve A10 bölgelerinde yer alan bitki numunelerinde Cr'a rastlanmamıştır. A1, A2 ve A10 noktalarından alınan toprak numunelerinde sırasıyla 77,47, 87,18 ve 71,96 mg kg⁻¹ olarak bulunmuştur. Bu noktalar dışında sadece A4 noktasında 4,09 mg kg⁻¹ olarak bulunmuş, diğer noktalardaki toprak numunelerinde Cr konsantrasyonlarına rastlanmamıştır.

Enzimlerin aktivasyonu için yaşamsal öneme sahip Mn elementi fotosentezde suyun parçalanmasında rol oynamakta ve bunun sonucunda da çimlenme ve meyve olgunlaşma süreçlerinin hızlanmasına katkıda bulunmaktadır. Çoğunlukla kireçli ve yüksek pH'lı topraklarda görülen Mn elementinin noksanlığında kloroplast oluşumu bozularak, hücreler küçülmekte ve hücre duvarı hakim duruma geçmekte ve sonuç olarak genç yapraklarda sarı noktalar halinde lekeler oluşmaktadır. Mn elementinin fazlalığında ise yaşlı yapraklarda mangan dioksit (MnO₂) birikimi nedeniyle kahverengi benekler ve beneklerin etrafında kloroz meydana gelmektedir (Bolat & Kara, 2017; Kacar & Katkat, 2015). Şekil 3c incelendiğinde, Mn konsantrasyonları diğer noktalardan farklı olarak A5 noktasında büyük ölçüde artış göstermiş ve 373,75 mg kg⁻¹ olarak bulunmuştur. Bunun dışında A3, A4 ve A6 noktalarında yer alan toprak numunelerinde Mn konsantrasyonları sırasıyla 11,86, 63,69 ve 55,85 mg kg⁻¹ olarak gerçekleşmişken, diğer noktalarda yer alan toprak numunelerinde Mn'a rastlanmamıştır. Bitkilerde ise mikro besin elementleri arasında kabul edilen Mn, en düşük A7 noktasında 27,72 mg kg⁻¹, en yüksek A10 noktasında 48,62 mg kg⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Fe elementi bitkiler, hayvanlar ve insanlar için mutlak gerekli bir element olup bütün canlılar tarafından az miktarda ihtiyaç duyulmakta, bitkide solunum ve fotosentez reaksiyonlarında rol oynamakta ve eksikliğinde klorofil üretimi azalarak bitki büyümesi yavaşlamaktadır. Uzun süreli yağışlar ve aşırı sulama gibi olaylar Fe noksanlığı oluşturmada veya yüksek pH'lı kireçli topraklarda Fe bileşikleri çözünemediğinden bitkilerce alınamamakta ve sonuç olarak bitkilerin genç yapraklarında bulunan damarlar arasında sararmalara neden olmakta ve bitki dokularında aminoasit ve nitrat birikimi meydana gelmektedir (Bolat & Kara, 2017; Kacar & Katkat, 2015). Şekil 3d incelendiğinde toprak numunelerinde büyükten küçüğe doğru Fe konsantrasyonları A4, A6, A1 ve A3 noktalarında sırasıyla 22343,57, 5287,42, 2677,01 ve 2147,4 mg kg⁻¹ olarak

bulunmuştur. Diğer noktalardaki toprak numunelerinde Fe bulunmamıştır. Bitki numunelerinde ise A9 ve A10 noktalarında Fe bulunamamış, A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7 ve A8 noktalarında sırasıyla 252,12, 115,74, 264,24, 241,38, 251,57, 113,35, 296,48 ve 368,02 mg kg⁻¹ olarak bulunmuştur.

Co elementi kültür bitkilerine toksik etki yapmakta olup toprakların çözeltiliye geçebilen kobalt içeriklerinin miktarı bitkiler için son derece önemlidir (Adiloğlu & Sağlam, 2015). Şekil 3e incelendiğinde bitkilerde ölçülen Co değerleri 0,23-0,69 mg kg⁻¹ aralığında olup, bütün noktalarda 0,09 mg kg⁻¹ üzerinde olduğu görülebilmektedir. Toprak numunelerinde ise A5, A7 ve A8 noktalarında Co elementine rastlanmamış, diğer noktalarda 0,35-7,09 mg kg⁻¹ aralığında Co konsantrasyonlarına rastlanmıştır.

Nikel, toprakta en fazla bulunan ağır metaller arasında yer alıp, izin verilen sınır değerleri aşmadığı sürece bitkiler için mikro besin elementi olarak görev almaktadır (Wuana & Okieimen, 2011; Yerli vd. 2020). Nikel, kömür, petrol, boya, elektronik, bakır ve çelik sanayisinde, madencilikte, fosil yakıtların yanmasında karşımıza çıkan bir ağır metaldir (Seven vd., 2018; Yerli vd., 2020). Az veya çok tüm topraklarda bulunan nikelin asıl kaynağı, fosforlu gübreler ve volkanik kökenli kayalardır (Yerli vd., 2020). Bir bitki besin elementi olan nikelin, bitkiler için mutlak gerekliliği tam anlamıyla açıklanmamıştır. Fakat, nikel bitkide üreaz ve hidrogenaz gibi enzimlerin yapı maddesini oluşturduğu için nikel eksikliği söz konusu olduğunda üre formundaki gübrelerden bitkiler yararlanamamaktadır (Kacar & Katkat, 2015). Yüksek nikel miktarı toksik etki göstererek, bitki fizyolojisini ve biyokimyasal süreçleri olumsuz etkiler. Klorofil sentezi ve yağ metabolizmasının engellenmesi (Öktüren Asri & Sönmez, 2006), total pigmentlerin, karotenoidlerin, klorofil a ve b'nin azalması, besin eksikliği ve beslenme bozukluklarının ortaya çıkması nikel toksisitesinin başlıca göstergeleridir (Kırbag Zengin & Munzuroglu, 2005). Şekil 3f incelendiğinde bitki numunelerinde Ni konsantrasyonları 0,42-3,33 mg kg⁻¹ arasında değişiyorken, toprak numunelerinde değişkenlik göstermektedir. A1 ve A2 noktalarında Ni konsantrasyonları sırasıyla 133,63 ve 90,47 mg kg⁻¹ olarak gerçekleşmiş, A3 ve A7 noktalarında azalarak sırasıyla 8,33 ve 4,92 mg kg⁻¹ olarak gerçekleşmiştir. Diğer noktalarda Ni gözlenmemiş olup, A1 ve A2 noktaları şehir merkezinde yer aldığından Bayburt ili özelinde Ni'in kömür yakılması sonucu yüksek miktarlarda oluştuğu düşünülebilmektedir.

Cu, düşük konsantrasyonlarda dahi tarımsal ürünlere, sudaki organizmalar ve insanlar için toksisiteye sebep olabilecek bir metal olmasına karşın Cu ve Zn gibi ağır metaller bitkilerin büyümesi ve gelişmesi için

gereklidir. Ancak Cu ve Zn ile Cd, Ni ve Pb'un fazlalığı bitkilerde toksik etki yapmaktadır (Okcu vd., 2009). Şekil 3g incelendiğinde Cu konsantrasyonları bitkilerde 6.92-15.38 mg kg⁻¹ aralığında yer alırken, toprak örneklerinde ise A1, A3, A5, A7 ve A8 noktalarında sırasıyla 12,53, 1,41, 10,84, 0,19, 0,22 mg kg⁻¹ olarak bulunmuşken, diğer noktalarda ise bulunmamıştır.

Suda çözünen formları bitkiler için uygun olan Zn elementinin bitkiye alımı topraktaki konsantrasyonu arttıkça artmaktadır. Bunun yanında ortamdaki kalsiyum (Ca) miktarında Zn alınımını etkilemektedir. Genellikle bitki köklerinde bulunan Zn, bitki metabolizması için çok gerekli bir elementtir. Bitkilerde, Zn eksikliğinden bahsetmek yerine Fe/Zn ve Zn/Cu oranlarından bahsetmek gerekmektedir. Muhtemelen bitki bünyesine alınım sırasındaki rekabetten dolayı bu elementlerden birinin konsantrasyonunun artması diğer elementin konsantrasyonunu azaltmaktadır. Zn zehirlenmelerinin etkisi diğer ağır metallerinkine benzer, ancak çinko diğer metaller kadar zehirli bir metal değildir (Okcu vd., 2009). Şekil 3h incelendiğinde Zn konsantrasyonları bitkilerde A4, A5 ve A6 noktalarında bulunmamış, diğer noktalarda 2,85- 223,82 mg kg⁻¹ aralığında tespit edilmiştir. Toprakta ise A2 noktasında elde edilen 15,75 değeri dışında Zn'ya rastlanmamıştır.

Günümüzde insan faaliyetleri sonucunda oluşan, biyolojik yarı ömrü uzun ve çok düşük dozlarda bile oldukça toksik bir metal olan Cd elementi doğada saf olarak bulunmamaktadır (Çatak vd., 2000; Goyer & Clarkson, 1996; Lyons-Alcantara vd., 1996). Kömür kullanımı, endüstriyel üretim aşamalarında oluşan baca gazları, fosfatlı gübreler, deterjanlar ve rafine petrol türevlerinin yaygın kullanımı sonucunda önemli miktarlarda kadmiyum kirliliği ortaya çıkmaktadır (Kahvecioğlu vd., 2003; Okcu vd., 2009). Şekil 3i incelendiğinde Cd konsantrasyonlarına bitkilerde az miktarda yada hiç rastlanmamıştır. A1, A2, A3 ve A8 noktalarında hiç yokken, diğer noktalarda 0,004-0,099 mg kg⁻¹ aralığında tespit edilmiştir. Toprak numunelerinde ise sadece A5, A6 ve A7 noktalarında sırasıyla 0,08, 0,03 ve 0,06 mg kg⁻¹ aralığında tespit edilmiştir.

Ekolojik sisteme zarar veren en önemli element olan ve toksik bir element olan Pb insan faaliyetleri sonucunda atmosfere metal veya bileşik olarak yayılmakta çevresel kirliliğine sebep olan ağır metallerin en önemlisidir. Kurşunun toprağa, bitkilere ve atmosfere geçişi çeşitli yollarla olmakta olup, endüstri kuruluşları, taşıt egzozları, akü, boya ve petrol sanayi atıkları ile pestisitler en önemli kurşun kaynakları olarak sıralanabilmektedir. Özellikle endüstri ve şehir merkezlerine yakın yerlerde yetişen bitkisel ve hayvansal gıdaların bünyesinde normal seviyelerin üzerinde kurşun bulundurmaktadır (Kahvecioğlu vd., 2003; Marr vd., 1999;

Okcu vd., 2009). Şekil 3i incelendiğinde bitkilerde Pb konsantrasyonları A1, A6, A9 ve A10 noktalarında sırasıyla 1,48, 0,84, 0,34 ve 0,48 mg kg⁻¹, diğer noktalarda ise tespit edilememiştir. Toprak numunelerinde ise A2, A4, A5, A6, A7, A8 ve A9 noktalarında sırasıyla 0,29, 10,19, 28,66, 32,55, 9,18, 4,32, 0,88 mg kg⁻¹, diğer noktalarda ise tespit edilememiştir.

Bayburt bölgesinden toplanarak analizi yapılan kantaron bitkisi ve toprak örneklerine ait ağır metal değerleri Tablo 1'de verilen kabul edilmiş ağır metal sınır değerleri ile karşılaştırıldığında toprak örneklerindeki ağır metal içeriği Ni hariç normal sınırlar içerisinde olduğu gözlemlenmiştir. A1 ve A2 noktalarındaki toprak örneklerinde Ni içeriğinin sınır değerlerinin biraz üstünde olması trafiğin yoğun olduğu ve sanayi bölgesinde olmasından kaynaklanabilir. Trafik yoğunluğunun az olduğu ve trafiğin yoğun olduğu karayollarının uzak mesafesindeki bölgelerde element içeriğinin azaldığı veya eser miktarda olduğu belirlenmiştir. Bitki örneklerinden elde edilen sonuçlara göre; A9 noktasından elde edilen Zn içeriği haricinde diğer elementlerin sınır değerlerinin altında olduğu belirlenmiştir. A9 noktasından elde edilen kantaron örneğindeki Zn ağır metal içeriğinin yüksek çıkmasının nedeni karayolu trafiğinin olduğu noktadan kaynaklanmış olabilir. Birtakım araştırmacıların yapmış oldukları araştırma sonucuna göre bitki ve topraktaki ağır metal içeriği karayoluna bağlı olarak değiştiğini tespit etmişlerdir (Özkan, 2017; Shi vd., 2007). Bu sonuçlar bizim sonuçlarımızla benzerlik göstermektedir. Motorlu taşıtların yoğun olduğu yerlerde araçların egzoz gazı, lastik aşınması, yağ sızıntısı gibi birçok etmene bağlı olarak çevrenin, toprağın kirlenmesi, civarda bulunan bitki örtüsünün ağır metal yoğunluğuna maruz kalmasına neden olmaktadır (Voegborlo & Chirgawi, 2007; Winther & Slentø, 2010).

SONUÇ VE TARTIŞMA

Bayburt ili gerek düşük nüfus yoğunluğu, gerekse sanayi kuruluşlarının sayısı dikkate alındığında Türkiye'nin en son illeri arasında yer alsa da, Karadeniz'i Doğu Anadolu'ya ve iç kesimlere bağlayan geçit yolları üzerinde bulunduğu ve bölgede yer alan maden yataklarının varlığı nedeniyle karayolları güzergâhlarındaki taşıt yoğunluğuna ve maden yataklarına bağlı olarak önemli miktarda bazı ağır metallerin salınımı kaçınılmaz olmaktadır. Bayburt ili alternatif tıpta kullanılabilecek tıbbi ve aromatik bitki varlığı ile dikkat çeken önemli bölgelerimizden bir tanesidir. Birçok hastalığın tedavisinde kullanılan kantaron bitkisi bölgede yol kenarlarında yaygın olarak bulunduğu ve ağır metal seviyesine ilişkin mevcut veri olmadığından bu bölgede buna benzer araştırmaların yaygın olarak

yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Toprakta ağır metal birikimi üzerinde yaşayan bitkileri olumsuz etkilerken, bu bitkileri toplayıp tüketen kişilerde de ciddi sağlık problemlerine yol açtığı bilinmektedir.

Bayburt bölgesinin belirli noktalarından elde edilen kantaron bitkisi ve toprak örneklerinin genel itibari ile ağır metal kirliliği seviyesinin altında olduğu belirlenmiştir. A1 ve A2 noktalarındaki toprak örneklerinde Ni içeriğinin ve A9 noktasındaki kantaron bitki örneğindeki Zn içeriğinin sınır değerinin biraz üstünde çıkması, bu noktaların Bayburt-Erzurum ve Bayburt- Erzincan bağlantı yollarında olması nedeniyle trafiğin yoğunluğundan kaynaklanmış olabilir. Ayrıca Zn bitkiler için en fazla ihtiyaç duyulan mikrobesein elementlerinde birisi olduğu dikkate alındığında bu oran dikkate alınmayabilir.

Dünya genelinde ciddi bir problem olan toprak ve bitki kirliliği ile ilgili çalışmalar mevcut olsa da, özellikle Bayburt gibi sanayinin gelişmediği bölgelerimiz göz ardı edilmektedir. Oysaki bölgesel bazlı bu tarz çalışmalar belirli aralıklar ile yapılarak ağır metal birikiminin zaman içerisindeki değişimi belirlenerek, olası ağır metal yoğunluğunda bölge özellikleri, kirleticinin özelliği, ekonomik uygunluk gibi birtakım faktörlerde göz önüne alınarak uygun arıtma yöntemleri belirlenmelidir.

KAYNAKLAR

- Adiloğlu, S. & Sağlam, M.T. (2015).** Karayolu kenarlarındaki tarım arazilerindeki topraklarda ekstrakte edilebilir Kobalt (Co) içerikleri. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **15**(035403), 24-29. DOI: [10.5578/fmbd.9981](https://doi.org/10.5578/fmbd.9981)
- Aricak, B., Cetin, M., Erdem, R., Sevik, H. & Cometan, H. (2020).** The usability of scotch pine (*Pinus sylvestris*) as a biomonitor for traffic-originated heavy metal concentrations in Turkey. *Polish Journal of Environmental Studies*, **29**(2), 1-7. DOI: [10.15244/pjoes/109244](https://doi.org/10.15244/pjoes/109244)
- Bernhoft, R.A. (2012).** Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of Environmental & Public Health*, **2012**(460508), 1-10. DOI: [10.1155/2012/460508](https://doi.org/10.1155/2012/460508)
- Bolat, İ. & Kara, Ö. (2017).** Bitki besin elementleri: Kaynakları, işlevleri, eksik ve fazlalıkları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, **19**(1), 218-228. DOI: [10.24011/barofd.251313](https://doi.org/10.24011/barofd.251313)
- Bouyahya, A., Belmehdi, O., El Jemli, M., Marmouzi, I., Bourais, I., Abrini, J. & Bakri, Y. (2019).** Chemical variability of *Centaureum erythraea* essential oils at three developmental stages and investigation of their in vitro antioxidant, antidiabetic, dermatoprotective and antibacterial activities. *Industrial Crops and Products*, **132**, 111-117. DOI: [10.1016/j.indcrop.2019.01.042](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.042)
- Božunović, J., Živković, S., Gašić, U., Glamočlija, J., Čirić, A., Matekalo, D. & Mišić, D. (2018).** In vitro and in vivo transformations of *Centaureum erythraea* secoiridoid glucosides alternate their antioxidant and antimicrobial capacity. *Industrial Crops & Products*, **111**, 705-721. DOI: [10.1016/j.indcrop.2017.11.040](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.11.040)
- Çakmak, H.E. & Bayram, E. (2003).** Muğla orijinli sarı kantaron (*Hypericum perforatum* L.) populasyonlarının bazı agronomik ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **40**(1), 57-64.
- Çatak, E., Çolak, G., Tokur, S. & Bilgiç, O. (2000).** Bazı domates ve tütün genotiplerinde kadmiyum etkilerini inceleyen istatistiksel bir çalışma. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **2**(1), 13-41.
- Çelebi, H. & Gök, G. (2018).** The Examination for pollution of the soils due to highways and traffic. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, **24**(6), 1169-1178.
- Dawson, A. (2008).** *Water in Road Structures: Movement, Drainage & Effects*, Vol. 5, Springer Science & Business Media.
- Ediene, V.F. & Umoetok, S.B.A. (2017).** Concentration of heavy metals in soils at the municipal dumpsite in Calabar Metropolis. *Asian Journal of Environment & Ecology*, **3**(2), 1-11.
- Goyer, R.A. & Clarkson, T.W. (1996).** Toxic effects of metals. *Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*, **5**, 696-698.
- Guo, P., Gong, Y., Wang, C., Liu, X. & Liu, J. (2011).** Arsenic speciation and effect of arsenate inhibition in a microcystis aeruginosa culture medium under different phosphate regimes. *Environmental Toxicology & Chemistry*, **30**(8), 1754-1759. DOI: [10.1002/etc.567](https://doi.org/10.1002/etc.567)
- Kacar, B., Katkat, A.V. & Öztürk, Ş. (2013).** *Bitki Fizyolojisi: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.*
- Kacar, B. & Katkat, A.V. (2014).** *Gübreler ve Gübreleme Tekniği: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.*
- Kacar, B. & Katkat, V. (2015).** *Bitki Besleme: Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti.*
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A. & Timur, S. (2003).** Metallerin çevresel etkileri-I. *Metaller Dergisi*, **136**, 47-53.
- Kılıç, M., Ay, G., Koçbaş, F., Mungan, F., Kula, İ. & Karabaş, M. (2014).** Ayvalık Tuzlası'nda yayılış gösteren *Suaeda prostrata* subsp. *prostrata* pall. alt türünün ağır metal birikimi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **4**(4), 9-18.

- Kırbağ Zengin, F. (2006).** Fasulye fidelerin (*Phaseolus vulgaris* L. cv. *Strike*) kök, gövde ve yaprak büyümesi üzerine nikel (Ni^{+2}) ve kromun (Cr^{+3}) etkileri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, **16**(1), 49-56.
- Kırbağ Zengin, F. & Munzuroglu, O. (2005).** Effects of some heavy metals on content of chlorophyll, proline and some antioxidant chemicals in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, **47**(2), 157-164.
- Lyons-Alcantara, M., Tarazona, J.V. & Mothersill, C. (1996).** The differential effects of cadmium exposure on the growth and survival of primary and established cells from fish and mammals. *Cell Biology & Toxicology*, **12**(1), 29-38.
- Marr, K., Fyles, H. & Hendershot, W. (1999).** Trace metals in Montreal urban soils and the leaves of taraxacum officinale. *Canadian Journal of Soil Science*, **79**(2), 385-387.
- Morse, N., Walter, M.T., Osmond, D. & Hunt, W. (2016).** Roadside soils show low plant available zinc and copper concentrations. *Environmental Pollution*, **209**, 30-37. DOI: [10.1016/j.envpol.2015.11.011](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.11.011)
- Okcu, M., Tozlu, E., Kumlay, A.M. & Pehlivan, M. (2009).** Ağır metallerin bitkiler üzerine etkileri. *Alinteri Zirai Bilimler Dergisi*, **17**(2), 14-26.
- Öktüren Asri, F. & Sönmez, S. (2006).** The effect of heavy metal toxicity on plant metabolism. *Derim* **23**(2), 36-45.
- Onyedikachi, U.B., Belonwu, D.C. & Wegwu, M.O. (2018).** Human health risk assessment of heavy metals in soils and commonly consumed food crops from quarry sites located at Isiagwu, Ebonyi State. *Ovidius University Annals of Chemistry*, **29**(1), 8-24. DOI: [10.2478/auoc-2018-0002](https://doi.org/10.2478/auoc-2018-0002)
- Özkan, A. (2017).** Antakya-Cilvegözü karayolu etrafındaki tarım arazilerinde ve bitkilerdeki ağır metal kirliliği. *Çukurova Üniversitesi Mühendislik & Mimarlık Fakültesi Dergisi*, **32**(3), 9-18.
- Sarma, H., Deka, S., Deka, H. & Saikia, R.R. (2012).** Accumulation of heavy metals in selected medicinal plants. *In Reviews of Environmental Contamination & Toxicology*, 63-86, Springer.
- Seven, T., Can, B., Darende, B.N. & Ocak, S. (2018).** Hava ve toprakta ağır metal kirliliği. *Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi*, **1**(2), 91-103.
- Sevik, H., Cetin, M., Ozel, H.U., Ozel, H.B., Mossi, M.M.M. & Cetin, I.Z. (2020).** Determination of Pb and Mg accumulation in some of the landscape plants in shrub forms. *Environmental Science & Pollution Research*, **27**(2), 2423-2431.
- Shi, G.T., Chen, Z.L., Xu, S.Y., Wang, L., Zhang, J., Li, H.W. & Li, L.N. (2007).** Characteristics of heavy metal pollution in soil and dust of urban parks in Shanghai. *Huanjing Kexue*, **28**(2), 238-242.
- Uwah, E.I. & John, K.O. (2014).** Heavy metal levels in roadside soils of some major roads in Maiduguri, Nigeria. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, **6**(6), 74-78.
- Varol, M. (2011).** Assessment of heavy metal contamination in sediments of the Tigris River (Turkey) using pollution indices and multivariate statistical techniques. *Journal of Hazardous Materials*, **195**, 355-364. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2011.08.051](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.051)
- Voegborlo, R.B. & Chirgawi, M.B. (2007).** Heavy metals accumulation in roadside soil and vegetation along a major highway in Libya. *Journal of Science & Technology (Ghana)*, **27**(3), 86-97. DOI: [10.4314/just.v27i3.33061](https://doi.org/10.4314/just.v27i3.33061)
- Wani, A.L., Ara, A. & Usmani, J.A. (2015).** Lead toxicity: a review. *Interdisciplinary Toxicology*, **8**(2), 55-64. DOI: [10.1515/intox-2015-0009](https://doi.org/10.1515/intox-2015-0009)
- Winther, M. & Slentø, E. (2010).** Heavy metal emissions for Danish road transport: *National Environmental Research Institute Roskilde*, Denmark.
- Wuana, R.A. & Okieimen, F.E. (2011).** Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation. *ISRN Ecology* **2011**(402647), 1-20. DOI: [10.5402/2011/402647](https://doi.org/10.5402/2011/402647)
- Yerli, C., Çakmakçı, T., Şahin, Ü. & Tüfenkçi, Ş. (2020).** Ağır metallerin toprak, bitki, su ve insan sağlığına etkileri. *Türk Doğa & Fen Dergisi*, **9**(Özel Sayı), 103-114. DOI: [10.46810/tdfd.718449](https://doi.org/10.46810/tdfd.718449)
- Yıldız, M., Terzi, H. & Uruşak, B. (2011).** Bitkilerde krom toksisitesi ve hücresel cevaplar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, **27**(2), 163-176.
- Yu, Q., Wu, W., Yang, P., Li, Z., Xiong, W. & Tang, H. (2012).** Proposing an interdisciplinary and cross-scale framework for global change and food security researches. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **156**, 57-71. DOI: [10.1016/j.agee.2012.04.026](https://doi.org/10.1016/j.agee.2012.04.026)
- Zhaoyong, Z., Abuduwaili, J. & Fengqing, J. (2015).** Heavy metal contamination, sources, and pollution assessment of surface water in the Tianshan Mountains of China. *Environmental Monitoring & Assessment*, **187**, 33. DOI: [10.1007/s10661-014-4191-x](https://doi.org/10.1007/s10661-014-4191-x)
- Zincircioğlu, N. (2013).** Investigation of the heavy metal contents of some agricultural lands in the region of Manisa-Akhisar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **50**(3), 333-339.



Antioxidant Potential of Chestnut Shell, Stinging Nettle, Kiwi Fruit and Citrus Fruit Extracts and Antibacterial Effects Against Some Fish Pathogens

Orhan KOBYA¹ Büşra KARA¹ Ecren UZUN-YAYLACI^{2*} Emre ÇAĞLAK¹

¹Faculty of Fisheries and Aquatic Sciences, Recep Tayyip Erdoğan University, Rize, Turkey

²Surmene Faculty of Marine Science, Karadeniz Technical University, Trabzon, Turkey

Geliş Tarihi: 29.01.2021

Kabul Tarihi: 31.03.2021

Basım Tarihi: 30.06.2021

How to cite: Kobya, O., Kara, B., Uzun-Yaylacı, E. & Çağlak, E. (2021). Antioxidant Potential of Chestnut Shell, Stinging Nettle, Kiwi Fruit and Citrus Fruit Extracts and Antimicrobial Effects Against Some Fish Pathogens. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 204-210.

Atıf yapmak için: Kobya, O., Kara, B., Uzun-Yaylacı, E. & Çağlak, E. (2021). Kestane Kabuğu, Isırgan Otu, Kivi Meyvesi ve Narenciye Özütlерinin Antioksidan Potansiyelleri ve Bazı Balık Patojenlerine Karşı Antimikrobiyal Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi.*, 6(2), 204-210.

[id : https://orcid.org/0000-0002-9788-4644](https://orcid.org/0000-0002-9788-4644)
[id : https://orcid.org/0000-0002-6289-720X](https://orcid.org/0000-0002-6289-720X)
[*id : https://orcid.org/0000-0002-2558-2487](https://orcid.org/0000-0002-2558-2487)
[id : https://orcid.org/0000-0002-7376-1359](https://orcid.org/0000-0002-7376-1359)

***Corresponding author's:**

Ecren UZUN-YAYLACI
Karadeniz Technical University, Surmene
Faculty of Marine Science, Trabzon, Turkey
✉: ecrenuzun@ktu.edu.tr

Abstract: The use of antioxidants and antibacterial compounds obtained from natural sources is important for human and animal health, as well as for controlling diseases. The aim of this study was to evaluate the antioxidant potentials and antibacterial effects of water extracts of *C. sativa*, *U. dioica*, *A. deliciosa* and *C. aurantium* against selected Gram-negative (*Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio rotiferianus*, *Vibrio campbellii*, *Vibrio ponticus* and *Aeromonas veronii*) and Gram-positive (*Bacillus thuringiensis*) bacteria. Results of antioxidant test indicated that the chestnut shell extract had the highest DPPH inhibition (87.03 %) followed by citrus fruit (80.40 %). All extracts showed antibacterial activity against one or more species of bacteria. The most susceptible bacteria were *V. harveyi* (32.05 mm zone diameter) and *V. campbellii* (21.66 mm zone diameter) and the resistant species were *V. anguillarum*, *V. ponticus* and *A. veronii*. The results show that plant extracts have the potential to be used as an antibacterial agent in aquaculture and as an antioxidant agent in processing technology.

Keywords: antibacterial activity, antioxidant potential, pathogen bacteria, plant extracts.

Kestane Kabuğu, Isırgan Otu, Kivi Meyvesi ve Narenciye Özütlерinin Antioksidan Potansiyelleri ve Bazı Balık Patojenlerine Karşı Antibakteriyel Etkileri

Öz: Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidan ve antimikrobiyal bileşiklerin kullanımı, insan ve hayvan sağlığı için olduğu kadar hastalıkların kontrolü açısından da önemlidir. Bu çalışmanın amacı, *C. sativa*, *U. dioica*, *A. deliciosa* ve *C. aurantium* bitkilerinden elde edilen su bazlı özütlерin antioksidan potansiyellerinin belirlenmesi, aynı zamanda seçilen Gram-negatif (*Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio rotiferianus*, *Vibrio campbellii*, *Vibrio ponticus* ve *Aeromonas veronii*) ve Gram-pozitif (*Bacillus thuringiensis*) bakterilere karşı antibakteriyel etkilerinin değerlendirilmesidir. Antioksidan aktivitesi testi sonuçlarına göre, en yüksek DPPH inhibisyonu (%87,03) kestane kabuğu özütünde, ikinci olarak turunc özütünde (%80,40) belirlenmiştir. Tüm özütlерin bir veya daha fazla bakteri türüne karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Özütlere karşı en duyarlı bakteriler *V. harveyi* (32,05 mm zon çapı) ve *V. campbellii* (21,66 mm zon çapı), dirençli türler ise *V. anguillarum*, *V. ponticus* ve *A. veronii* olarak belirlenmiştir. Çalışma sonuçları, elde edilen özütlерin su ürünleri yetiştiriciliğinde antibakteriyel madde ve işleme teknolojisinde antioksidan ajan olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

***Sorumlu yazar:**

Ecren UZUN-YAYLACI
Karadeniz Teknik Üniversitesi, Surmene
Deniz Bilimleri Fakültesi, Trabzon, Türkiye
✉: ecrenuzun@ktu.edu.tr

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel aktivite, antioksidan potansiyel, bitki özütü, patojen bakteri.

INTRODUCTION

Antibiotic treatment has been applied for many years against bacterial diseases in aquaculture (Done et al., 2015). Continuous application of antibiotics causes the change of microbiota in aquaculture and can lead to evolving of antibiotic resistant bacteria (Resende et al., 2012; Akkan & Çolaker, 2020; Akkan & Topkaraoğlu, 2019). The occurrence of antibiotic resistant bacteria could have an adversely affect both natural environment and human health (Smith et al., 1994). Plant-based approaches have been widely used in veterinary and human medicine. Many plant extracts have a significant role in aquaculture (Çağlak & Karşli, 2016; Direkbusarakom, 2004; Karşli et al., 2021).

Seafood has always maintained its importance in terms of nutrition due to its high protein content and the main source of polyunsaturated fatty acids (Bayraklı & Duyar, 2021; Çağlak & Karşli, 2017). Besides these nutritional properties, it has a short shelf life (Karşli et al., 2019). Oxidation of fatty acids causes bitter taste and color changes (Kılınççeker, et al., 2009).

Plant sources may contain antioxidant and antimicrobial properties since it contains abundant phenolic substances (Karşli, 2021; Kolaylı, et al., 2003; Rice-Evans et al., 1997). Antioxidants inhibit the formation of free radicals (FR) and reactive oxygen species (ROT). FR and ROTs damage the parts of the cell such as protein, fat, carbohydrate, and DNA, causing their structural properties to deteriorate. Antioxidants are substances that react very quickly with FR and ROTs and prevent autooxidation / peroxidation process (Karabulut & Gülay, 2016). The antioxidant properties of various plant extracts are also used in studies on the preservation of food derived from seafood.

Castanea sativa is known chestnut and it belongs to the family of *Fagaceae*. Chestnut shell extracts show antioxidant activity (Vázquez et al., 2009) and leaves have antibacterial activity against bacterial strains because of their flavonoids (Basile et al., 2000). *Urtica dioica* L. is stinging nettle and it belongs to the family of *Urticaceae* (Akgül, 1993). Nettle extracts have been used for traditional medicine because of their flavonoids, carotenoids, sterols, minerals, vitamins and amino acids (Baytop, 1999; Karabacak & Bozkurt, 2008). Many studies have shown that nettle extracts have antioxidant (Matsingou et al., 2001) and antibacterial activity (Gülçin et al., 2004). *Actinidia deliciosa* is green kiwi fruit and is a member of the *Actinidiaceae* family (Al-Kawaz & AL-Mashhady, 2016). Kiwi fruit contain high levels of antioxidants (Szeto et al., 2002). It is a source of vitamin C, dietary fibre, vitamin E, potassium (Nishiyama et al.,

2004) and bioactive compounds especially polyphenols (Park et al., 2006). Anzabi (2015) reported that kiwi fruit extracts have stronger antibacterial activity. *Citrus aurantium* L. belongs to *Rutaceae* family and is generally known as bitter orange (Azhdarzadeh & Hojjati, 2016). Citrus fruits are an important source of antioxidants (Kang et al., 2006). They are rich in flavonoids (Suntar et al., 2018), ascorbic acid, phenolic compounds (Kamran et al., 2009), high fibre and vitamin contents and terpenes (Lario et al., 2004). Due to the abundance of many secondary metabolites bitter orange shows antibacterial properties (Kirbaşlar et al., 2009).

The use of antioxidants and antimicrobial compounds obtained from natural sources is important for human and animal health, as well as for controlling diseases. This current study was aimed to evaluate the antioxidant potentials and the *in vitro* antimicrobial activities of water extracts of *C. sativa*, *U. dioica*, *A. deliciosa* and *C. aurantium* against seven fish pathogenic bacteria for producing new antimicrobial agent of great benefit to aquaculture and preserving the high unsaturated fatty acids found in seafood.

MATERIAL AND METHOD

Plant material: The plant materials were collected in November-December 2019 from Northeast of Turkey and identified at the Department of Plant Biology of Recep Tayyip Erdoğan University (Table 1). Studies were conducted in the Faculty of Fisheries Seafood Processing Technology Laboratory.

Table 1. Characterization of chestnut, stinging nettle, kiwi fruit and bitter orange testing in present study.

Plants Name	Scientific Name of Plant	Used Organ	Collecting Area
Chestnut	<i>Castanea sativa</i>	Shell	Northeast of Turkey, Borçka, Artvin
Stinging nettle	<i>Urtica dioica</i> L.	Plant	Northeast of Turkey, Çarşıbaşı, Trabzon
Kiwi	<i>Actinidia deliciosa</i>	Fruit Peel	Northeast of Turkey, İyidere, Rize
Citrus	<i>Citrus aurantium</i> L.	Fruit Peel	Northeast of Turkey, İyidere/Rize

Preparation of the extract: The collected fresh samples were dried in the oven at 60 °C for 24 hours, and then ground to a smaller 1 mm powder with the help of a laboratory-type grinder. 5 grams of sample powders were weighed and put into the Erlenmeyer flasks and 100 ml of distilled water was added. Thus, the ratio of extracts was set to 5%. The outside of the Erlenmeyer flask was covered with aluminum foil so as not to receive light and the probe of the ultrasonic homogenizer device was placed inside the flask. The conditions were adjusted as follows and the ultrasonic homogenizer was operated.

Device conditions: Time: 15 minutes, Temperature: 25°C (room temperature), Pulse: 5 seconds stroke / 5 seconds standby, Amplitude: 20%.

After the process applied with ultrasonic homogenizer, all samples were filtered with Whatman (no: 42) filter paper and the residues in the solution were removed from the extract. The extracts were filled into dark colored bottles and stored at -80 °C until the analysis period.

Antioxidant activities: The antioxidant capacity of each sample was determined according to the Spectrophotometric DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical scavenging activity method (Brand-Williams & Berset, 1995). In this method, proton transfer is realized mainly by antioxidant to DPPH free radical. As a result of the displacement of electrons, the initial purple-violet color turns yellow over time. The reaction rates of antioxidant substances with DPPH are different because the hydroxyl group in its chemical structure and molecular size are different. Spectrophotometric measurement was carried out at a wavelength of 517 nm. The DPPH scavenging percentage calculated according to the following formula (Duh et al., 1999).

$$\text{Percent inhibition} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

A₀: absorbance of the control reaction

A₁: absorbance of the sample

Bacterial strains: Seven fish pathogenic bacterial strains were selected; *Vibrio harveyi* (NR 043165.1) *Vibrio vulnificus* (NR 036888.1), *Vibrio anguillarum* (NR 029254.1), *Vibrio rotiferianus* (NR 042081.1), *Vibrio campbellii* (MH231447.1), *Vibrio ponticus* (NR 029032.1) and *Aeromonas veronii* (NR 044845.1) all Gram-negative. *Bacillus thuringiensis* (NR 043403.1) was tested as Gram-positive in the study. Strains from naturally infected fish *Dicentrarchus labrax* that were confirmed previously by Uzun & Ogut (2015). All the bacterial strains were subcultured from the original culture in Mueller Hinton (MH) agar supplemented with 1.5% NaCl at 24°C for 24 h was used for the antibacterial assay.

Antibacterial assay: The disc diffusion method was used to evaluate the antibacterial activity. Bacterial strains grown on MH agar supplemented with 1.5% NaCl at 24 °C for 24 h. The bacterial inoculum was suspended in a saline solution (0.85% NaCl) and adjusted to a 0.5 McFarland standard turbidity (10⁸ CFU/ml). Sterile discs (Whatman 2017-009) with the diameter of 6 mm were impregnated with 15 µL of each extract and left to dry under laminar flow cabinet. Discs injected with 15 µL of sterilized water served as negative controls. Test bacteria were streaked on MH Agar with a sterilized cotton swabs then the extract discs were positioned on the agar. The bacteria-streaked plates with the extract discs were incubated at 24 °C for 2 days. Each extract was assayed in triplicate, independently. The diameter of the inhibition

zone around each disc was measured with a digital caliper (Maher 16; with a precision of 0.1 mm) and recorded.

Statistical analysis: To evaluate the data, variance analysis was performed using the JMP 5.0.1 (SAS) package program and the Tukey test was applied to the groups with differences.

RESULTS AND DISCUSSION

Antioxidant capacity: Numerous methods have been proposed to evaluate antioxidant activity and function (Gülçin et al., 2004). In this study, antioxidant activity of the water extract of *C. sativa*, *U. dioica*, *A. deliciosa* and *C. aurantium* were evaluated using free radical DPPH scavenging assay. DPPH assay is widely used for the evaluation of antioxidant activities of natural products (Duh et al., 1999). DPPH is characterized as a stable colored radical accepts an electron to become a stable diamagnetic molecule (Gülçin et al., 2004; Kedare & Singh, 2011). It is a rapid, simple, inexpensive and widely used method for evaluating the activity of antioxidants. DPPH assay is spectrophotometric technique and shows a strong absorption band at 517 nm. As can be seen in Figure 1, all extracts had an inhibitory effect on the DPPH radical.

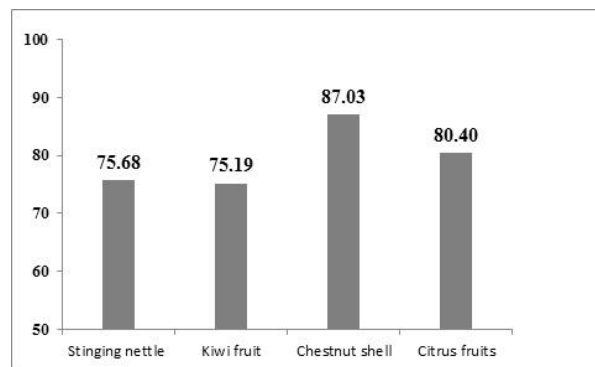


Figure 1. Antioxidant values (% inhibition).

Chestnut inner shell was determined as the extract with the highest inhibition effect among the extracts examined in the study. Coccia et al. (2019) determined the antioxidant capacity of chestnut shell according to the DPPH method. They found the inhibition amounts of the extracts prepared with water and ethanol to be 74.3% and 79.8%, respectively. Park et al. (2015) determined the amounts of antioxidants of kiwi fruit using DPPH method. They found the amount of inhibition of kiwi fruit at 92.9%. Güder & Korkmaz (2012) have identified the antioxidant amounts of extracts prepared by hydroalcoholic solution of the portions of nettle grass. They found the inhibition amounts of leaves, flowers and root extracts with a density of 250 µg/mL of nettle grass as 48.7%, 54.2% and 60.5%, respectively. Xu et al., (2008) detected the antioxidant amount of orange juice by DPPH method. They found the

amount of inhibition of orange juice at 69.36%. When the antioxidant results of our study were examined, the inhibition amounts of nettle, orange and chestnut extracts were found to be higher than in the studies above. Park et al., (2015) in his study, the amount of inhibition of kiwi extraction was found to be higher than in our study. Differences between inhibition amounts; the method and rate of the extract used may affect factors such as environmental conditions of the plant.

Kılınççeker, (2014) determined in his study on the use of sage and nettle extracts in fish meatball coatings that the TBA amounts of all samples remained at an acceptable level until the last day of storage. Fernandez-Lopez et al., (2005) determined that the TBA values of meatballs with rosemary, lemon and orange oils were lower than the control group, and that essential oils had significant effects on the storage period. It has been shown in the literature that the antioxidant properties of stinging nettle, kiwi fruit, chestnut shell and citrus fruits extracts are beneficial in the field of seafood processing. In this regard, it is anticipated that these extracts can be beneficially used in seafood processing technology.

Antimicrobial activity: The antibacterial activity of the *C. sativa*, *U. dioica*, *A. deliciosa* and *C. aurantium* extracts was assessed against Gram-negative (*V. harveyi*, *V. vulnificus*, *V. anguillarum*, *V. rotiferianus*, *V. campbellii*, *V. ponticus* and *A. veronii*) and Gram-positive (*B. thuringiensis*) bacteria. The evaluation of the antibacterial activity was realized by the disc diffusion testing. Table 2 illustrated that all extracts showed antibacterial activity against at least one of the reference strains. The most susceptible bacteria were *V. harveyi* and *V. campbellii* and the resistant species were *V. anguillarum*, *V. ponticus* and *A. veronii*. From all the prepared extracts, the chestnut's inner shell was the most effective in suppressing microbial growth, as it was effective against 3 of the 8 bacteria tested, whereas the other three extracts showed variable antimicrobial activity were effective against only 2 or 3 bacteria each. The highest antibacterial potentiality extract was chestnut's inner shell, followed by the stinging nettle.

Table 2. Antibacterial activities (diameter of inhibition zone, mm) of water extracts in disc diffusion assay.

Plant	Inhibition zones (mm)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>C. sativa</i>	32.05	ND	ND	10.05	21.66	ND	ND	ND
<i>U. dioica L.</i>	18.44	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
<i>A. deliciosa</i>	ND	ND	ND	ND	17.46	ND	ND	ND
<i>C. aurantium L.</i>	14.66	9.56	ND	ND	ND	ND	ND	12.13

1. *V. harveyi*; 2. *V. vulnificus*; 3. *V. anguillarum*; 4. *V. rotiferianus*; 5. *V. campbellii*; 6. *V. ponticus*; 7. *A. veronii*; 8. *B. thuringiensis*; ND: zone diameter was not determined.

In this study, chestnut's shell extract is effective against Gram-negative bacteria, it was very effective in

suppressing *V. harveyi* growth since it presented the larger inhibition zone. However, had no effect against Gram-positive bacteria. It is known that lipopolysaccharide found in the surfaces of Gram-negative bacteria represent a major barrier for the entry of phenols into the cell cytoplasm (Fattouch et al., 2007; Martillanes et al., 2017). Nevertheless, *V. harveyi*, *V. rotiferianus* and *V. campbellii* were inhibited by chestnut's shell extract. This can be explained by the fact that chestnut shells have phenolic acids known to have antibacterial effect against Gram-negative bacteria (Silvia et al., 2020).

Modarresi-Chahardehi et al. (2012) reported that, string nettle extract had an antimicrobial effect on *Vibrio parahaemolyticus* and *Bacillus subtilis*. In present study, string nettle extract had an antimicrobial effect only against *V. harveyi* among *Vibrio* species but did not show any antibacterial activity against *B. thuringiensis*. Three reasons accounting for the different antibacterial activity of string nettle extract may be: extraction method, solvent and time. Because these differences may result in the release of different biological active components (alkaloids, flavonoids, essential oil, terpenoids, etc.) (Hanan et al., 2013). It is known that *Citrus* fruit extracts had antibacterial activity against microorganism. The study of Kirbaşlar et al. (2009) reported bitter orange extract had an antimicrobial effect both Gram-negative and Gram-positive bacteria. Similarly, in this study bitter orange extract exhibit inhibitory activity against *V. harveyi*, *V. vulnificus* (Gram-negative) and *B. thuringiensis* (Gram-positive). El-Kichaoi et al. (2015) reported that kiwi fruit extracted by water showed little antimicrobial activity both Gram-negative and Gram-positive bacteria. In our study *A. deliciosa* fruit extracts had an antimicrobial effect on only *V. campbellii*. All the extracts in the study were prepared with water. Although extracts prepared with ethanol provide stronger antimicrobial activity, water extracts also showed high antimicrobial activity in our study. This can be explained by the fact that the water extract was found to be richer in polar phenols than ethanol and methanol (Triantaphyllou et al., 2001), and this compound may be increasing the antimicrobial activity for water extracts (El-Kichaoi et al., 2015).

CONCLUSION

It is known that synthetic antioxidant and antimicrobial substances have negative effects on animals and humans. Therefore, interest in natural substances is increasing. With such studies, the antioxidant and antimicrobial activities of plant extracts can be determined and their potential for use in aquaculture and in processed seafood are evaluated.

All plant extracts tested in this study had potential antibacterial activities against the reference strains. The chestnut inner shell extract with the highest DPPH inhibition also showed the highest zone diameters on agar. The results of the study support the use of these plants in the treatment of infectious diseases in aquaculture and for the prevention of fat oxidation in processed seafood technologies. *In vitro*, our results demonstrated the efficacy of these plant extracts in the inhibition of some pathogenic bacteria with an acceptable degree of effectiveness, but *in vivo* experiments are needed to confirm these results. The use of these extracts in different proportions in processed seafood and their introduction to industry should be improved.

CONFLICT of INTERESTS

The authors declare that there is no conflict of interests.

REFERENCES

- Akgül, A. (1993). Spies science and technology. *Association Food Technology Publ.*, 1993; No: 15. Ankara, Turkey.
- Akkan, T. & Çolaker, F. (2020). Determining the Bacteriological Pollution Level of Gelevera Creek, Giresun. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 5(4), 691-695. DOI: 10.35229/jaes.818132
- Akkan, T. & Topkaraoğlu, T. (2019). Determination of antibiotic resistance levels of Escherichia coli isolates obtained from freshwater sources: Batlama Creek. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3), 539-544. DOI: 10.35229/jaes.650210
- Al-Kawaz, H.S. & AL-Mashhady, L.A.M. (2016). Evaluation of the phytochemical constituents and oxidant – antioxidant status for *Actinidia deliciosa* extracts. *International Journal of Pharmacy and Therapeutics*, 7, 31-41.
- Anzabi, Y. (2015). In Vitro Study of *Berberis vulgaris*, *Actinidia deliciosa* and *Allium cepa* L. antibacterial effects on *Listeria monocytogenes*. *Crescent Journal of Medical and Biological Sciences*, 2, 111-115.
- Azhdarzadeh, F. & Hojjati, M. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (*Citrus aurantium*) essential oils. *Nutrition and Food Sciences Research*, 3, 43-50. DOI: 10.18869/ACADPUB.NFSR.3.1.43
- Basile, A., Sorbo, S., Giordano, S., Ricciardi, L., Ferrara, S., Montesano, D., Castaldo Cobianchi, R., Vuotto, M.L. & Ferrara L. (2000). Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. *Fitoterapia*, 71, 110-116. DOI: 10.1016/s0367-326x(00)00185-4
- Bayraklı, B. & Duyar, H.A. (2021). Balık Unu Kalitesine Balık Tazeliğinin Etkisi; Hamsi Unu. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(1), 57-65.
- Baytop, T. (1999). *Therapy with Plant in Turkey*. Istanbul University, Faculty of Pharmacy (Second press). Nobel Medicine Bookstores, Istanbul, Turkey.
- Brand-Williams, W.M.E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Çağlak, E. & Karşlı, B. (2017). Seasonal variation of fatty acid and amino acid compositions in the muscle tissue of zander (*Sander lucioperca* Linnaeus, 1758) and the evaluation of important indexes related to human health. *Italian Journal of Food Science*, 29(2), 266. DOI: 10.14674/1120-1770/ijfs.v576
- Çağlak, E. & Karşlı, B. (2016). The effect of black seed oil and olive oil on shelf life of dry-salted crucian carp (*Carassius carassius* Linnaeus, 1758). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(4), 1624-1631.
- Coccia, E., Siano, F., Volpe, M.G., Varricchio, E., Eroldoğan, O.T. & Paolucci, M. (2019). Chestnut shell extract modulates immune parameters in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fishes*, 4, 18. DOI: 10.3390/fishes4010018
- Direkbusarakom, S. (2004). Application of medicinal herbs to aquaculture in Asia. *Walailak Journal of Science and Technology*, 1, 7-14.
- Done, H.Y., Venkatesan, A.K. & Halden, R.U. (2015). Does the recent growth of aquaculture create antibiotic resistance threats different from those associated with land animal production in agriculture? *American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, 17, 513-524. DOI: 10.1208/s12248-015-9722-z
- Duh, P., Tu, Y. & Yen, G. (1999). Antioxidant activity of water extract of Harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Lwt-Food Science and Technology*, 32, 269-277. DOI: 10.1006/food.1999.0548
- El-Kichaoui, A., El-Hindi, M., Mosleh, F. & Elbashiti, T. (2015). The antimicrobial effects of the fruit extracts of *Punica granatum*, *Actinidia deliciosa* and *Citrus maxima* on some human pathogenic microorganisms. *American International Journal of Biology*, 3, 63-75. DOI: 10.15640/aijb.v3n2a5
- Fattouch, S., Caboni, P. & Coroneo, V. (2007). Antimicrobial activity of Tunisian quince (*Cydonia oblonga* Miller) pulp and peel polyphenolic extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 963-969. DOI: 10.1021/jf062614e
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J.A. & Kuri, V. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs. *Meat*

- Science, **69**, 371-380. DOI: [10.1016/j.meatsci.2004.08.004](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.08.004)
- Güder, A. & Korkmaz, H. (2012).** Evaluation of in-vitro antioxidant properties of hydroalcoholic solution extracts *Urtica dioica* L., *Malva neglecta* Wallr. and their mixture. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **11**, 913-923.
- Gülçin, I., Küfrevioğlu, O.I., Oktay, M. & Büyükokuroğlu, M.E. (2004).** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L). *Journal of Ethnopharmacology*, **90**, 205-215. DOI: [10.1016/j.jep.2003.09.028](https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.028)
- Hanan, B., Hijazi, A., Rammal, H., Hachem, A., Saad, Z. & Badran, B. (2013).** Techniques for the extraction of bioactive compounds from Lebanese *Urtica dioica*. *American Journal of Phytomedicine and Clinical Therapeutics*, **1**, (6), 507-513.
- Kamran, G., Youcef, G. & Ebrahimzadeh, M.A. (2009).** Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 Citrus species peels and tissues. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, **22**, 277-281.
- Kang, H.J., Chawla, S.P., Jo, C., Kwon, J.H. & Byun, M.W. (2006).** Studies on the development of functional powder from citrus peel. *Bioresearch Technology*, **97**, 614-620. DOI: [10.1016/j.biortech.2005.03.037](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.037)
- Karabacak, S. & Bozkurt, H. (2008).** Effects of *Urtica dioica* and *Hibiscus sabdariffa* on the quality and safety of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Meat Science*, **3**, 288-296. DOI: [10.1016/j.meatsci.2007.06.013](https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.06.013)
- Karabulut, H. & Gülay, M.Ş. (2016).** Antioxidants. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Veterinary Faculty*, **1**, 65-76. DOI: [10.24880/maevufd.260790](https://doi.org/10.24880/maevufd.260790)
- Karsli, B., Caglak, E., Li, D., Rubio, N. K., Janes, M. & Prinyawiwatkul, W. (2019).** Inhibition of selected pathogens inoculated on the surface of catfish fillets by high molecular weight chitosan coating. *International Journal of Food Science & Technology*, **54**(1), 25-33. DOI: [10.1111/ijfs.13897](https://doi.org/10.1111/ijfs.13897)
- Karsli, B. (2021).** Antibacterial and antioxidant activity of pulp, peel and leaves of *Feijoa sellowiana*: Effect of extraction techniques, solvents and concentration. *Food and Health*, **7**(1), 21-30. DOI: [10.3153/FH21003](https://doi.org/10.3153/FH21003)
- Karsli, B., Caglak, E. & Kilic, O. (2021).** Application of black cumin and green tea extracts and oils for microbiological, physicochemical, textural and sensorial quality of vacuum packaged rainbow trout fillets stored at 2±1°C. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. DOI: [10.1080/10498850.2021.1880511](https://doi.org/10.1080/10498850.2021.1880511)
- Kedare, S.B. & Singh, R.P. (2011).** Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, **48**, 412-422. DOI: [10.1007/s13197-011-0251-1](https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1)
- Kılınççeker, O., Dogan, İ.S. & Kucukoner, E. (2009).** Effect of edible coatings on the quality of frozen fish fillets. *LWT - Food Science and Technology*, **42**, 868-873. DOI: [10.1016/j.lwt.2008.11.003](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2008.11.003)
- Kılınççeker, O. (2014).** The use of sage and stinging nettle extracts in edible coatings for fish meat balls. *Adiyaman University Journal of Science*, **4**, 47-56.
- Kirbaşlar, F.G. Tavman, A., Dülger, B. & Türker, G. (2009).** Antimicrobial activity of Turkish citrus peel oils. *Pakistan Journal of Botany*, **41**, 3207-3212.
- Kolayli, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F. & Dinçer, B. (2003).** Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (Cherry laurel) fruit grown in the Black Sea region. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **51**, 7489-7494. DOI: [10.1021/jf0344486](https://doi.org/10.1021/jf0344486)
- Lario, Y., Sendra, E., Garcí'a-Pe' rez, J., Fuentes, C., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J. & Pérez-Alvarez, A.J. (2004).** Preparation of high dietary fiber powder from lemon juice by-products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **5**, 113-117. DOI: [10.1016/j.ifset.2003.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2003.08.001)
- Martillanes, S., Rocha-Pimienta, J., Cabrera-Bañegil, M., Martín-Vertedor, D. & Delgado-Adámez, J. (2017).** Application of phenolic compounds for food preservation: Food additive and active packaging. *Phenolic Compounds - Biological Activity*, **3**(8), 39-58. DOI: [10.5772/66885](https://doi.org/10.5772/66885)
- Matsingou, T.C., Kapsokefalou, M. & Salifoglou, A. (2001).** Aqueous infusions of mediterranean herbs exhibit antioxidant activity towards iron promoted oxidation of phospholipids, linoleic acid, and deoxyribose. *Free Radical Research*, **35**, 593-605. DOI: [10.1080/10715760100301601](https://doi.org/10.1080/10715760100301601)
- Modarresi-Chahardehi, A., Ibrahim, D., Fariza-Sulaiman, S., Mousavi, L. (2012).** Screening antimicrobial activity of various extracts of *Urtica dioica*. *Revista de Biología Tropical*, **60**, 1567-1576.
- Nishiyama, I., Yamashita, Y., Yamanaka M, Shimohashi A, Fukuda T, Oota T. (2004).** Varietal difference in vitamin C content in the fruit of kiwifruit and other *Actinidia* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **52**, 5472-5475. DOI: [10.1021/jf049398z](https://doi.org/10.1021/jf049398z)
- Park, Y.S., Jung, S.T., Kang, S.G., Drzewiecki, J, Namiesnik, J., Haruenkit, R., Barasch D., Trakhtenberg, S. & Gorinstein, S. (2006).** In vitro studies of polyphenols, antioxidants and other dietary indices in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **57**, 107-122. DOI: [10.1080/09637480600658385](https://doi.org/10.1080/09637480600658385)
- Park, Y.S., Im, M.H., Ham, K.S., Kang, S.G., Park, Y.K., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Trakhtenberg, S. & Gorinstein, S. (2015).** Quantitative assessment of the main antioxidant compounds, antioxidant activities and FTIR

- spectra from commonly consumed fruits, compared to standard kiwi fruit. *LWT-Food Science and Technology*, **63**, 346-352. DOI: [10.1016/j.lwt.2015.03.057](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.057)
- Resende, J.A., Silva, V.L., Fontes, C.O., Souza-Filho, J. A., Rocha de Oliveira, T. L., Coelho, C. M., César, D. E. & Diniz, C. G. (2012).** Multidrug-resistance and toxic metal tolerance of medically important bacteria isolated from an aquaculture system. *Microbes Environments*, **27**, 449-455. DOI: [10.1264/jsme2.me12049](https://doi.org/10.1264/jsme2.me12049)
- Rice-Evans, C., Miller, N. & Paganga, G. (1997).** Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, **2**, 152-159. DOI: [10.1016/S1360-1385\(97\)01018-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(97)01018-2)
- Silva, V., Falco, V. & Dias, M.I. (2020).** Evaluation of the phenolic profile of *Castanea sativa* Mill. by-products and their antioxidant and antimicrobial activity against multi resistant bacteria. *Antioxidants* (Basel), **9**(1), 87. DOI: [10.3390/antiox9010087](https://doi.org/10.3390/antiox9010087)
- Smith, P., Hiney, M.P. & Samuelsen, O.B. (1994).** Bacterial resistance to antimicrobial agent used in fish farming: a critical evaluation of method and meaning. *Annual Review of Fish Diseases*, **4**, 273-313. DOI: [10.1016/0959-8030\(94\)90032-9](https://doi.org/10.1016/0959-8030(94)90032-9)
- Szeto, Y.T., Tomlinson, B. & Benzie, I.F. (2002).** Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *The British journal of nutrition*, **87**, 55-59. DOI: [10.1079/BJN2001483](https://doi.org/10.1079/BJN2001483)
- Suntar, I., Khan, H., Patel, S., Celano, R. & Rastrelli, L. (2018).** An overview on *Citrus aurantium* L.: Its functions as food ingredient and therapeutic agent. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, Article ID7864269. DOI: [10.1155/2018/7864269](https://doi.org/10.1155/2018/7864269)
- Triantaphyllou, K., Blekas, G. & Boskou, D. (2001).** Antioxidative properties of water extracts obtained from herbs of the species Lamiaceae. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, **52**, 313-317. DOI: [10.1080/09637480120057512](https://doi.org/10.1080/09637480120057512)
- Uzun, E. & Ogut, H. (2015).** The isolation frequency of bacterial pathogens from sea bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Southeastern Black Sea. *Aquaculture*, **437**, 30-37. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2014.11.017](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.11.017)
- Vázquez, G., González-Alvarez, J., Santos, J., Freire, M.S. & Antorrena, G. (2009).** Evaluation of potential applications for chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products*, **2**, 364-370. DOI: [10.1016/j.indcrop.2008.07.004](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.07.004)
- Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y. & Shi, J. (2008).** Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. *Food Chemistry*, **106**, 545-551. DOI: [10.1016/j.foodchem.2007.06.046](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.046)



Removal of Chemical Oxygen Demand, Total Organic Carbon and Color from Textile Industry Wastewater by Using *Phanerochaete chrysosporium* (ME446)

Numan YILDIRIM¹

Gökhan Önder ERGÜVEN^{2*}

Aytekin ÇELİK³

¹Department of Plant and Animal Production, Tunceli Vocational School, Munzur University, TR62000 Tunceli, Turkey

²Munzur University, Faculty of Economics and Administrative Sciences, Department of Political Science and Public Administration, Department of Urbanization and Environmental Issues, TR62100, Tunceli, Turkey

³Firat University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, 23720, Elazığ, Turkey

Geliş/Received: 24.01.2021

Kabul/Accepted: 13.04.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Ergüven, G.Ö., Yıldırım, N. & Çilek, A. (2021). Removal of Chemical Oxygen Demand, Total Organic Carbon and Color from Textile Industry Wastewater by Using *Phanerochaete chrysosporium* (ME446). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 211-216.

Atıf yapmak için: Ergüven, G.Ö., Yıldırım, N. & Çilek, A. (2021). Tekstil Endüstri Atıksuyundan *Phanerochaete chrysosporium* ile KOİ, TOK ve Renk Giderimi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 211-216.

<https://orcid.org/0000-0003-1573-080X>
 <https://orcid.org/0000-0003-1109-8106>
 <https://orcid.org/0000-0003-4234-1797>

***Corresponding author's:**

Gökhan Önder ERGÜVEN
Munzur University, Faculty of Economics and Administrative Sciences, Department of Political Science and Public Administration, Department of Urbanization and Environmental Issues, TR62100, Tunceli, Turkey
✉: goerguven@munzur.edu.tr

Abstract: Wastewater discharge from textile industries concern environmental risks. Superiority of microbial methods over high cost combined methods includes conversion of persistent organic materials to non-toxic last materials, sustainability, low cost, and comfortable. Textile wastewaters can have opposite effects on the quality of water in total organic carbon (TOC) and chemical oxygen demand (COD). In this study, Biotreatment of textile wastewater from the dyeing process using white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* (P.C) was investigated in agitated and static culture conditions to solve these problems. The treatment mediums containing distilled water in 1:10 ratio of wastewater were compared for treatment efficiency of P.C. Especially in agitated conditions at 27°C and 150 rpm, it was achieved a successful treatment results. Under these conditions, a 48h long treatment reduced by 91,46 % of the original COD (from 1484 ppm) and by 94,92% the TOC (initial was 723.66 ppm). Moreover, treatment reduced color by 86,28 % from 3.550 A₅₄₀ to 0.487 A₅₄₀ at the end of the study. The decolorization properties of P.C obtained high performance and we determined P.C showed up to effective removal efficiency for COD and TOC within 48 hours. As a result, it was determined that, these fungus pellets of P.C reached the high bioremediation efficiency and can be a useful tool for bioremediation of textile dye wastewater within a short time period.

Keywords: Bioremediation, COD, *P. chrysosporium*, textile wastewater, TOC.

Tekstil Endüstri Atıksuyundan *Phanerochaete chrysosporium* ile KOİ, TOK ve Renk Giderimi

Öz: Tekstil endüstrilerden kaynaklı atıksu deşarjı çevresel riskler teşkil eder. Mikrobiyal metodların diğer yüksek maliyetli kombine metodlara nazaran üstünlüğü kalıcı organik materyallerin toksik olmayan nihai ürünlere dönüşmesi, sürekliliği, düşük maliyeti ve uygulanırlığıdır. Tekstil atıksuları su kalitesine toplam organik karbon (TOK) ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) bakımından olumsuz etki yapar. Bu çalışmada boyar madde prosesinden gelen tekstil atıksuyunun beyaz kök mantarı *Phanerochaete chrysosporium* (P.C) ile biyoarıtımı çalkalamalı ve statik kültür koşullarında bu problemleri çözmek için araştırılmıştır. 1:10 oranında distile su içeren atıksudaki arıtma ortamları P.C' nin arıtma verimiyle kıyaslanmıştır. Özellikle çalkalamalı kültür koşullarında 27°C'da 150 rpm'de oldukça uygun bir arıtma sonucu elde edilmiştir. Bu koşullar altında, 48 saatte arıtım orjinal KOİ'de %91,46'ya (1484 ppm'den) ve TOK bakımından ise %94,92 (giriş değeri 723.66 ppm'dir). Bunlara ilave olarak çalışma sonunda renkdeki giderim 3,550 A₅₄₀'den 0.487 A₅₄₀'a %86,28'in altına düşmüştür. P.C'nin dekolorizasyon özelliği yüksek bir performans elde etmiştir ve P.C; KOİ ve TOK'da 48 saatte etkili bir giderim oranı göstermiştir. Sonuç olarak, P.C yüksek bir biyoremediasyon oranına ulaştığı ve tekstil boyar madde atıksularının biyoremediasyonunda kısa zaman periyodunda kullanılabilir olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Biyoremediasyon, KOİ, *P. chrysosporium*, Tekstil atıksuyu, TOK.

***Sorumlu yazar:**

Gökhan Önder ERGÜVEN
Munzur Üniversitesi, İktisadi ve İdari Bilimler Fakültesi, Siyaset Bilimi ve Kamu Yönetimi Bölümü, Şehirleşme ve Çevre Sorunları Bölümü, TR62100, Tunceli, Türkiye
✉: goerguven@munzur.edu.tr

INTRODUCTION

The textile industries consist of hundreds of different type of dyes that can be stay in the presence of some chemical substances, light vulnerability and also biological degradation. In the world, 10.000 synthetic dyes being used. Since their essential refractoriness, 90% of reactive textile industry dyes stay in the sewer plant systems and at the end, dismissed into receiving environments. Every year, around 30×10^4 tons of industrial textile dyes are dismissed into the wastewater channels (Ogugbue et al., 2011). These wastewaters have opposite effects on the receiving bodies, not only by flogging waters but also by mutagenic capacity and target toxicity (Singh et al., 2015). Wastewater discharge from textile and other common industries produces environmental risks (Saratale et al., 2011). In textile wastewater discharging, the common environmental problem is dyes (Yildirim et al., 2018).

Although a too many textile industries are linked to effluent treatment units, the partially treated wastes is discharged into the receiving environments like seas, rivers, lakes or streams. When discharge levels and waste composition are regarded, the textile facility is the most polluting sector in the world (Miled and Ladhari, 2020).

Environmental problems are related to the associated colour, high COD values, low biodegradability, fluctuating pH and high temperature of the wastewater (Al-Kdasi et al., 2004). Coagulation-flocculation followed by sedimentation or adsorption is generally used, but is not encouraging due to the secondary pollution arising from the residual sludge. Aerobic biological treatment methods are the most preferred methods in the textile wastewater plants but have low efficiency with synthetic dye waters, which represent more than 80% of the annual consumption in these industries (Tounés et al., 2018). The existent chemical, physical and photochemical approach for the removal of such dyeing wastewaters have some opposite properties like cost, associated functional and operational problems, and large amounts of sludge that consists hazardous materials (Srinivasan et al., 2010). In order to discharge effluents that meet legislative bodies, innovative processes using advanced techniques have been tested and applied in several ways (Miled et al., 2015). Most of these methods can only transfer the effluents from one phase to the other leaving the problem fundamentally unsolved. Additionally, such storage systems do not include attractive possibilities of recycling because of storage is unsatisfactory. Wastewater treatment from reactive and direct dyes involves some complications due to the high salinity, which makes reprocess of treated wastewaters impossible for irrigation activities (Khatri et al., 2015). Environment friendly technologies have also

been recommended in order to reduce the impact of these kind of materials generated from industrial plants (Kumar et al., 2018). To handle these problems, over the last years, biological methods such as bioremediation and biosorption by both living and dead microorganisms in aerobic, anaerobic or facultative treatment methods with microorganisms have been preferred (Robinson et al., 2001). A wide range of combined methods have been used to manage textile dyes (Saratele et al., 2011). Although the chemical and physical processes are seemed to be practical for removal of dyes, they have also constitutional difficulties such as high operative cost, and toxic last products and exhaustive energy uptake (Arora et al., 2017, Yonten et al., 2016).

Fungi and bacteria have also been shown to efficaciously decolorize and biodegrade textile wastewater dyes (Asgher et al., 2013, Hossain et al., 2016, Urrea et al., 2020). The role of fungus has been recently chosen and shown to be related to the biodegradation of dyes (Yildirim et al., 2018, Yonten et al., 2016). There is still limited information about the influence of decolorization processes on water ecosystems (Przystas et al., 2015). White rot fungi (*P. chrysosporium*, *Pleurotus* sp, *Trametes* sp, *Ganoderma* sp) are among the most suitable fungi for the removal of synthetic reactive dyes. In nature, these fungi colonize wood and other lignocellulosic substrates and knowledge of their capacity to remove recalcitrant dyes from wastewater. Different extracellular enzymes of the fungi are able to oxidize dye compounds (Novotny et al., 2004).

This study reveals out the common results obtained during the laboratory scale studies on the reduction of TOC, COD, and color with a newly isolated white rot fungi *P. chrysosporium* as an inexpensive alternative process for degradation of textile dye bath wastewater existing from the dyeing process. The study depends on find out the efficiency of the *P. chrysosporium* for bioremediation of textile wastewater.

MATERIAL AND METHOD

Wastewater samples: The red-colored textile wastewater was obtained from Tekirdag province of Turkey. This dye bath wastewater from the dyeing process was bottled in a plastic container and kept at 4°C. The physicochemical characteristics of used wastewater are demonstrated in Table 1. The wastewater was sterilized by an autoclave at 121⁰ and 1.5 atm about 15 minutes before used in bioremediation assays.

Table 1. Characteristics of textile wastewater.

Parameters	Values
Absorbance, A ₅₄₀	3.550
COD (ppm)	1484
TOC (ppm)	723.66
pH	10.2

Fungus and pellet preparation: *Phanerochaete chrysosporium* (ME446) were taken from Hacettepe University, Department of Biology and was stored at 4°C, after subculturing at 27°C every two-three weeks on sabouraud dextrose agar (SDA). The fungus was cultured at 27°C on SDA plates according to (Zelles et al., 1991). After 4 days of incubation, mycelial plugs (5 mm diameter) from the peripheral region of an actively growing culture were used as inoculum. These mycelial plugs were transferred into 100 mL Sabouraud dextrose broth (SDB) in a 250-mL flask. Incubations were performed in a shaking incubator (150 rpm) at 27°C for 4 days. After incubation step, the culture was homogenized and used for the inoculation for pellet preparation. Fungal pellets were gathered by filtration from culture media and wet pellets (500 mg) were used in the decolorization for additional experiments.

Decolorization assays: About 500 mg wet fungal pellets (5000ppm) were transferred into 100 mL the sterilized wastewater in 250 mL flasks. The agitation rate and temperature were 150 rpm and 27 °C, respectively in orbital shaken incubator for 24, and 48 h. For decolorization, COD and TOC experiments, all studies were performed with 1/1 (crude, undiluted) and 1/10 (diluted with deionized water) samples of textile wastewater. This dilution rate was for reduce the inhibition effect of wastewater on fungus. At last, the bioremediation efficiency increased.

Decolorization of wastewater was measured in filtrates (three replicate flasks) after eliminating the pellets, and monitored spectrophotometrically at the maximum wavelength of 540 nm absorbance (Harry et al., 1991). The systems without the fungus served as abiotic controls.

$$\text{Decolorization (\%)} = \frac{A_x - A_y}{A_x} \times 100$$

Where, A_x = Absorbance of the blank (wastewater),

A_y = Absorbance of the treated dyes solution after incubation.

Physico-chemical analysis: Color experiments were performed with UV-Visible spectrophotometers (Shimadzu H524148) at Abs_{540nm} . The COD experiments were performed with HACH DRB 200 thermoreactor (heating phase to 148°C) and HACH DR 890 colorimeter (reading phase). Hach COD kits that have measurement capacity in the range of 0-1500 mg O_2/dm^3 (Cat number: 23459-52) used by the line of Standard Method 5220C closed reflux method. For inhibiting the microbial activity, only one drop of 0.1N H_2SO_4 added to the samples before transferred to COD or TOC device. For this process, 2.5 ml of samples added to the COD kits that contains 3.5 ml $AgNO_3$ and 1.5 ml of Cr_2O_7 . After that, the COD kits were taken to the HACH DRB200 thermoreactodr at 150 C⁰ for two hours. After this time finished, COD kits were taken to the room temperature for cooling. The cooled samples

were put on a HACH DR 890 colorimeter and COD values were readed at 540 nm. Abs and level of decreasing followed. TOC determinations were performed with Standard Method 5310A (burning at a high temperature) with SHIMADZU TOC-V. TOC is universally measured by oxidizing the organic compounds present to forms which can be quantified. High-temperature combustion at 1200°C in an oxygen-rich atmosphere. The CO_2 produced is passed through scrubber tubes to remove interferences and measured by non-dispersive infrared absorption (NDIR). According to this method, samples were filled to 5 ml tubes and settled to TOC analyzer device in Laboratory of Firat University Environmental Engineering Department and decreasing of the TOC parameter followed like COD assays. All of the experiments were performed at room temperature (25°C) according to the methods described in (APHA, AWWA, 2005).

Statistical analysis: SPSS version PASW Statistics 18 was performed for analysis of all data (SPSSInc., Chicago, IL, USA). ANOVA was carried out to analysis of data and when $p < 0.05$, results was considered significantly different. Differences between means were analyzed using Duncan's multiple range test for post hoc multiple comparisons. Values were presented as the mean \pm standard error (Anova, 2017)

RESULTS AND DISCUSSION

The live pellets of P.C performed a rapid wastewater decolorization activity for decolorization, COD and TOC parameters in 48 hours. 59,16 and 86,28% decolorization was observed after 24h and 48h incubations in agitated conditions with crude wastewater, respectively. In static conditions, the highest decolorization activity was observed as 42,49 and 62.34 % after 24h and 48h incubations with crude wastewater, respectively (Fig. 1).

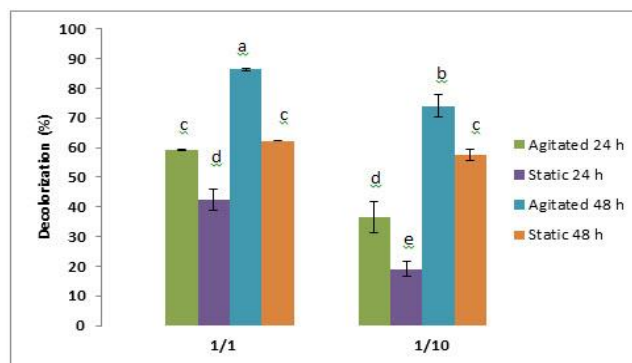


Figure 1. Reduction of decolorization in media with agitated and static conditions at the end of 24th and 48th hours. Different letters on the bar (a,b,c,d,e) show statistical differences of Duncan's multiple range test among all groups ($p < 0.05$).

The highest COD reduction was achieved by pellets as 91.46 % in the agitated medium with crude

wastewater after 48h incubation. The lowest reduction efficiency was noted as 58,19% in static medium with crude wastewater after 24h incubation. Generally, agitated mediums with crude wastewater were showed high COD reduction efficiencies than static mediums with 1:10 diluted wastewater (Fig. 2

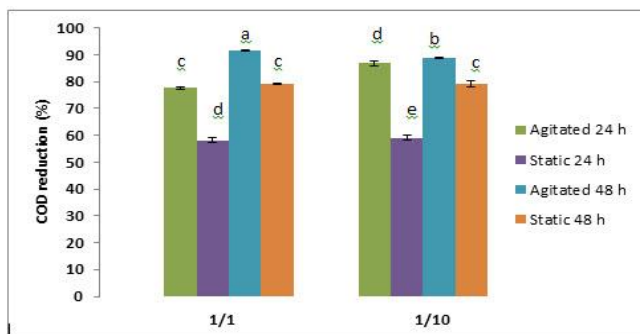


Figure 2. Reduction of COD in media with agitated and static conditions at the end of 24th and 48th hours. Different letters on the bar (a,b,c,d,e) show statistical differences of Duncan's multiple range test among all groups ($p < 0.05$).

According to the results, best removal performance occurred for TOC parameter in agitated conditions as 94.63 and 94,92% at the end of the 24h and 48h respectively in media with 1:10 diluted wastewater (Fig. 3).

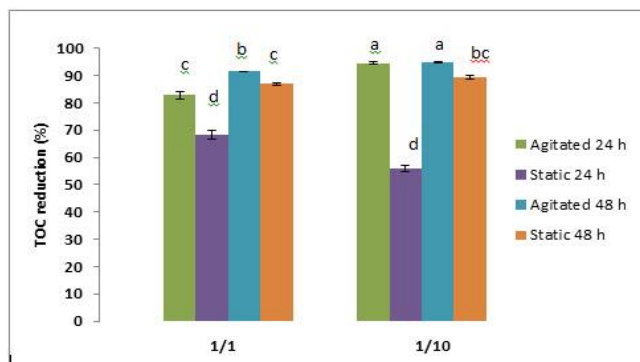


Figure 3. Reduction of TOC in media with agitated and static conditions at the end of 24th and 48th hours. Different letters on the bar (a,b,c,d,bc) show statistical differences of Duncan's multiple range test among all groups ($p < 0.05$).

While the highest color and COD removal was observed in crude wastewater medium, the highest TOC reduction was obtained in the medium with 1:10 diluted medium. For all three parameters (Color, COD, and TOC) the highest removal values were obtained under agitated conditions.

The changing in the color removal of other reactive dyes might be attributable to the morphological difference of the textile industry wastewaters and used microorganisms (Kalyani et al., 2008). Most dyes have high levels of COD in their compositions and can have opposite effects on the quality of water in TOC and COD parameter (Mahmoud et al., 2017).

The obtained results gained from the treated wastewaters showed, *P. chrysosporium* could effectively decolorize the textile wastewater. Color removal efficiency was obtained approximately as 87% when wastewater was not diluted (crude) in agitated medium. Our results are more standardized to the results obtained recent studies on decolorization of textile wastewater by *P. chrysosporium*. The effect of concentration on decolorization of textile wastewater was performed, Our results revealed that the decolorization rates were high at 1:10 concentration of the wastewater. This may be due to the fungal growth was inhibited by crude wastewater (1/1). The similar results were already reported by Novotny et al. (2004). In all the cases color removal decreased by decreasing the initial concentration of the wastewater. There were similar observations on decolorization of textile wastewater by *P. chrysosporium*. Decolorization efficiencies were found to be higher in agitated culture conditions than static culture conditions. Homogenous physical and chemical environments caused by agitated conditions through increasing remove of mass and reducing gradients of concentration (Shahvali et al., 2000, Nienow, 2006). According to Nilsson et al. (2006), wastewater decolorization efficiency of reactive blue 4 (a blue anthraquinone dye) or reactive red 2 (a red azo dye) found in the range of 65-70% for treating a textile wastewater using the white rot fungus and for removing textile dyestuff containing wastewater by *Coriolus versicolor* in reactor at the end of three days. Kapdan and Kargi (2002) revealed out a maximum decolorization efficiency of 77% on a textile dyestuff wastewater in 24 h. In another study about biological treatment of textile effluent, Andleeb et al. (2020) studied with fungal isolate of *A. terreus*. They found overall color, BOD and COD removed by 84.5, 66.5 and 75.2%, respectively at 24 h period. Sedighi et al. (2009) tried to reveal out the decolorization performance of *P. chrysosporium* on textile wastewater for decolorization and COD parameters and these efficiencies were found as 87 and 42% in 4 days period. Compared with these literatures, the present study shows good reduction performance (86,28%) of *P. chrysosporium* in agitated conditions at a crude sample for decolorization.

In present study, observed high COD removal efficiency may be due to complete mineralization of highly oxidizable dyes represent in the wastewater (91,46%). This means COD value decreased to 122 ppm from 1485 ppm. This value is very suitable for discharge limits according to the water pollution control regulation in Turkey, Table 10 (Official Gazette Date/Number: 31.12.2004/25687). Similarly Pakshirajan and Kheria (2012) have reported that the COD removal may be due to biodegradation of complex organic materials such as dyes present in the wastewater. According to their study, the removal

performance of *P. chrysosporium* on textile wastewater was 64 and 83% for decolorization and COD parameters at the end of 6 days. Mahmoud (2016) found an increase in COD removal percentage to 62% of some reactive dye from aqueous solution using strain of *S. cerevisiae* within 6 days. Lin et al., (2009) has degraded synthetic dye water, with partial decolorization. In this study, there was total decolorization with 90% of COD and 83% of color reduction in 70 hour period. Faraco et al. (2009) have obtained 31% COD reduction of acid dye wastewater by white-rot fungus *P. ostreatus* treatment at one week. Compared with these three literatures, the study reveals high COD removal efficiencies (91,46%) by *P. chrysosporium* in agitated conditions.

We have obtained 94,92% TOC reduction in agitated conditions with 1:10 diluted wastewater after 24 h. Hai et al. (2005) reported TOC removal from a synthetic textile wastewater by a white rot fungus *Coriolus versicolor* was about 97% in 24 hours. Hossain et al. (2016) studied bioremediation of the Textile Wastewater using white-rot fungus *Coriolus versicolor*. At the end of the study, they revealed out TOC removal about 97% within 2 weeks. Mohamed et al. (2016) achieved nearly 75% TOC reduction of textile effluent by *Neurospora sp* at 48 hours and declared that the textile dye used as a sole carbon source.

CONCLUSION

According to the results of the study, the live pellets of the *P. chrysosporium* were found to remove more than 86% of the color of this textile wastewater at the end of the 48th hours. This time is very suitable time when comparing with the similar studies. This microbial source found to be alternative process for the treatment of textile effluent. Experiments are planned to further examine the pathways and enzymes involved in the degradation of these dyes. The dye-removal capacity was a function of exposure time and was proportional to the agitation or static media. The decolorization performance of *P. chrysosporium* remained high and this fungus showed up to 90% removal efficiency for COD and TOC parameter within two days. Our results suggest that *P. chrysosporium* pellets can play an important part to the bioremediation of industrial textile wastewater.

REFERENCES

Al-Kdasi, A., Idris, A., Saed, K. & Chuah, T. (2004). Review: Treatment of textile wastewater by advanced oxidation processes. *Global Nest Journal*, **6**, 222-230.

Andleeb, S., Atiq N., Ali, M.I., Hussnaini, R.R.U., Shafique, M., Ahmad, B., Ghumro, P.B.,

Hussain, M., Hameed, A., Ahmad, S. (2010). Biological treatment of textile effluent in stirred tank bioreactor. *International Journal Of Agriculture & Biology*, **12**, 256-260.

APHA, AWWA, WEF (2005). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 21th Edition, Washington, DC.

ANOVA. (2017). IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.

Arora, S., Sain, H.S. & Singh, K. (2007). Decolorization optimization of a mono azo disperse dye with *Bacillus firmus*: Identification of a degradation product. *Coloration Technology*, **123**, 184-190.

Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabaee, A.A., Sarbolouki, M.N. & Dastghei, S.M.M. (2007) Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *Bioresource Technology*, **98**, 2082-2088.

Asgher, M., Yasmeen, Q. & Iqbal, H.M.N. (2013). Enhanced decolorization of solar brilliant red 80 textile dye by an indigenous white rot fungus *Schizophyllum commune* IBL-06. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **20**, 347-352.

Faraco, V., Pezzella, C., Miele, A., Giardina, P. & Sannia, G. (2009). Bioremediation of colored industrial wastewaters by the white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus ostreatus* and their enzymes. *Biodegradation*, **20**, 209-220.

Hai, F.I., Yamamoto, K. & Fukushi, K. (2005). Different fouling modes of submerged hollow-fiber and flat-sheet membranes induced by high strength wastewater with concurrent biofouling. *Desalination*, **180**, 89-97.

Harry, W.S., Paul, J.V. & John, J.L.E. (1991). *Microbes in Action: A Laboratory Manual of Microbiology* 4th Edition. 450 pp.

Hossain, K., Quaik, S., Ismail, N., Rafatullah, M., Avasan, M. & Shaik, R. (2016). Bioremediation and Detoxification of the Textile Wastewater with Membrane Bioreactor Using the White-rot Fungus and Reuse of Wastewater, *Iranian Journal of Biotechnology*, **14**, 154-162.

Kalyani, D.C., Patil, P.S., Jadhav, J.P. & Govindwar, S.P. (2008). Biodegradation of reactive textile dye Red BLI by an isolated bacterium *Pseudomonas sp.* SUK1. *Bioresource Technology*, **99**, 4635-4641.

Kapdan, I.K. & Kargi, F. (2002). Biological decolorization of textile dyestuff containing wastewater by *Coriolus versicolor* in a rotating biological contactor. *Enzyme and Microbial Technology*, **30**, 195-199.

Khatri, A., Peerzada, M., Mohsin, M. & White, M. (2015). A review on developments in dyeing cotton fabrics with reactive dyes for reducing effluent pollution. *Journal of Cleaner Production*, **87**, 50-57.

Lin, J., Zhang, X., Zhongjian, L. & Lei, L. (2009). Biodegradation of reactive blue 13 in a two-stage

- anaerobic/aerobic fluidized beds system with a *Pseudomonas spissolate*. *Bioresource Technology*, **101**, 34-40.
- Mahmoud, M.S. (2016).** Decolorization of certain reactive dye from aqueous solution using Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) strain. *HBRC Journal*, **12**, 88-98.
- Mahmoud, M.S., Mostafa, M.K., Mohamed, S.A., Sobhy, N.A. & Nasr, M. (2017).** Bioremediation of red azo dye from aqueous solutions by *Aspergillus niger* strain isolated from textile wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **5**, 547-554.
- Mohamed, V.B.H., Arunprasath, R. & Purusothaman, G. (2016).** Biological treatment of azo dyes on effluent by *Neurospora sp* isolated and adopted from dye contaminated site. *Journal of the Textile Institute*, **111**, 1239-1245.
- Miled, W., Soula, S., & Ladhari, N. (2015).** Treatment of water soluble dyes in real textile wastewater by Fenton's process. *International Journal of Scientific & Technology Research*, **3**, 102-106.
- Miled, W. & Ladhari, N. (2020).** Ecological contribution of Fenton process for generation of a ready-to-reuse dyeing and finishing effluent. *Water SA*, **46**, 104-113.
- Nienow, A.W. (2006).** Reactor Engineering in Large Scale Animal Cell Culture. *Cytotechnology*, **50**, 9-33.
- Nilsson, I., Möller, A., Mattiason, B., Rubindamayugi, M.S.T. & Welander, U. (2006).** Decolorization of synthetic and real textile wastewater by the use of white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology*, **38**, 94-100.
- Novotny, C., Svobodova K., Kasinath, A. & Erbanova, P. (2004).** Biodegradation of synthetic dyes by *Irpex lacteus* under various growth conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation*, **54**, 215-223.
- Ogugbue, C.J. & Sawidis, T. (2011).** Bioremediation and Detoxification of Synthetic Wastewater Containing Triarylmethane Dyes by *Aeromonas hydrophila*. Isolated from Industrial Effluent. *Biotechnology Research International*, 967925.
- Panga, K.K., Vijaya, K., Kavita, V., Pooja, K., Bhagawan, D. & Vurimindi, H. (2018).** Phycoremediation of sewage wastewater and industrial flue gases for biomass generation from microalgae. *South African Journal of Chemical Engineering*, **25**, 133-146.
- Pakshirajan, K. & Kheria, S. (2012).** Continuous treatment of colored industry wastewater using immobilized *Phanerochaete chrysosporium* in a rotating biological contactor reactor. *Journal of Environmental Management*, **101**, 118-123.
- Prystas, W., Godlewska, E.Z. & Sota, E.G. (2015).** Efficacy of fungal decolorization of a mixture of dyes belonging to different classes. *Brazilian Journal of Microbiology*, **46**, 415-424.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. & Nigam, P. (2001).** Remediation of dyes in textile effluent: A critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, **77**, 247-255.
- Saratale, R.G., Saratale, G.D., Chang, J.S. & Govindvar, S.P. (2011).** Bacterial decolorization and degradation of azo dyes: A review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, **42**, 138-157.
- Sedighi, M., Karimi, A. & Vahabzadeh, F. (2009).** Involvement of ligninolytic enzymes of *Phanerochaete chrysosporium* in treating the textile effluent containing Astrazon Red FBL in a packed-bed bioreactor. *Journal of Hazardous Materials*, **169**, 88-93.
- Shahvali, M., Assadi, M.M. & Rostami, K. (2000).** Effect of environmental parameters on decolorization of textile wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*. *Bioprocess Engineering*, **23**, 721-726.
- Singh, N.K., Kazmi, A.A. & Starkl, M. (2015).** A review on full-scale decentralized wastewater treatment systems: techno-economical approach. *Water Science and Technology*, **71**, 468-478.
- Srinivasan, A. & Viraraghavan, T. (2010).** Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: A review. *Journal of Environmental Management*, **91**, 1915-1929.
- Tounés, A., Tornikoski, E.T. & Gribaa, F. (2018).** The formation of environmentally friendly intentions of sme owner-managers in an emerging country: The case of Tunisian's textile-clothing industry. *Organization and Environment*, **32**, 528-554.
- Urrea, M.E., Trujillo, M.P. & Vicent, T. (2020).** Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor*. *Chemosphere*, **74**, 765-772.
- Yildirim, N.C., Tanyol, M., Yildirim, N., Serdar, O. & Tatar, S. (2018).** Biochemical responses of *Gammarus pulex* to malachite green solutions decolorized by *Coriolus versicolor* as a biosorbent under batch adsorption conditions optimized with response surface methodology. *Ecotoxicology Environment Safety*, **156**, 41-47.
- Yonten, V., Tanyol, M., Yildirim, N., Yildirim, N.C. & Ince, M. (2016).** Optimization of Remazol Brilliant Blue R dye removal by novel biosorbent *P. eryngii* immobilized on Amberlite XAD-4 using response surface methodology. *Desalination and Water Treatment*, **57**, 15592-15602.
- Zelles, L., Adrian, P., Bai, Q.Y., Stepper, K., Adrian, M.V., Fischer, K., Maier, A. & Ziegler, A. (1991).** Microbial activity measured in soils stored under different temperature and humidity conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, **23**, 955-962.



The Effect of Different Proportions of Rosehip (*Rosa canina*, L.) Oil Added to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Feed on Growth Performance^[*]

Obey ALNAIEM¹ Hamdi AYDIN^{2*}

¹Kocaeli University, Institute of Science, Fisheries Master Student, Umuttepe, Kocaeli, Turkey

^{2*}Kocaeli University, Faculty of Agriculture, Department of Fisheries, Kartepe, Kocaeli, Turkey



Geliş/Received: 01.02.2021

Kabul/Accepted: 25.03.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Alnaiem, O. & Aydın, H. (2021). The Effect of Different Proportions of Rosehip (*Rosa canina*, L.) Oil Added to Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Feed on Growth Performance. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 217-223.

Atıf yapmak için: Alnaiem, O. & Aydın, H. (2021). Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Yemlerine Eklenen Farklı Oranlardaki Kuşburnu (*Rosa canina*, L.) Yağının Büyüme Performansına Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 217-223.

 <https://orcid.org/0000-0002-9014-9583>
 <https://orcid.org/0000-0002-3854-6047>

***Corresponding author's:**

Hamdi AYDIN

Kocaeli Üniversitesi, Faculty of Agriculture,
Department of Fisheries, Kartepe, Kocaeli,
Turkey.

✉: aydin@kocaeli.edu.tr

Abstract: In this study, the effects of rosehip (*Rosa canina* L.) oil added to the diets of juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.) at different rates on the growth performance, feed efficiency and survival rate of fish were investigated. For this purpose, rosehip oil in 4 different concentrations (0, 2, 4 and 6 ml / kg) was added to the feed of juvenile trout with an initial average weight of 1.7 ± 2.8 g, for 90 days (pH 7.15-8.33, temperature 12.3-15.9 °C and dissolved oxygen in the range 6.85-10.8 mg / l). The experimental groups were planned with 2 replications and 200 juvenile fish were placed in each tank and a total of 1600 fish were studied. At the end of the experiment, the highest increase in live weight was obtained in the IV. group in which 53.71 ± 1.12 g and 0.71 ± 0.02 feed conversion rate and 6 ml / kg rosehip oil was added and the difference was statistically significant compared to the other groups ($P < 0.05$). As a result; in this study, it was determined that the addition of Rosehip oil to juvenile trout feeds increased the rate of feed efficiency to fish and had a positive effect on the development of fish.

Keywords: Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, rosehip oil, *Rosa canina*, growth performance.

Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Yemlerine Eklenen Farklı Oranlardaki Kuşburnu (*Rosa canina*, L.) Yağının Büyüme Performansına Etkisi

Öz: Bu çalışmada yavru gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* W.) yemlerine farklı oranlarda ilave edilen Kuşburnu (*Rosa canina* L.) yağının, balıkların büyüme performansı, yemden yararlanma ve yaşama oranı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, başlangıç ortalama ağırlıkları $1,7 \pm 0,11$ g olan yavru alabalıkların yemlerine 4 farklı konsantrasyonda 0 ml/kg, 2 ml/kg, 4 ml/kg ve 6 ml/kg olacak şekilde Kuşburnu yağı ilave edilerek 90 gün boyunca (pH 7,15-8,33, sıcaklık 12,3-15,9 °C ve çözülmüş oksijen 6,85-10,8 mg/l aralığında) beslenmiştir. Deneme grupları 2 tekerrürlü olarak planlanmış ve her bir tanka 200 adet yavru balık konularak toplamda 1600 adet balıkla çalışma yürütülmüştür. Deneme sonunda en yüksek canlı ağırlık artışı ($53,71 \pm 1,12$ g) ve ($0,7 \pm 0,02$) yem dönüşüm oranı ile 6 ml/kg Kuşburnu yağı ilave edilen IV. grupta elde edilmiş ve diğer gruplara göre istatistiksel olarak fark önemli çıkmıştır ($P < 0,05$). Sonuç olarak; bu çalışmada, kuşburnu yağının yavru alabalık yemlerine ilave edilmesi ile balıkların yemden yararlanma oranının arttığı ve balıkların gelişmelerinde de olumlu etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: Gökkuşluğu alabalığı, *Oncorhynchus mykiss*, kuşburnu yağı, *Rosa canina*, büyüme performansı.

***Sorumlu yazar:**

Hamdi AYDIN

Kocaeli Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su
Ürünleri Bölümü, Kartepe, Kocaeli, Türkiye.

✉: aydin@kocaeli.edu.tr

[*] This study was produced from the master thesis.

INTRODUCTION

Aquaculture is the fastest growing food producing sector in the world and especially it has made very rapid progress in the last 30 years. The global population is increasing, thus, the demand for aquatic food products is also increasing. With capture fisheries becoming increasingly unsustainable due to excessive and unconscious fishing, aquaculture is expected to overtake capture fisheries in supplying the world's protein requirements in the future. Fish and other aquaculture supply at least 20% of the animal protein source of people in developing countries and more than 50% of people in poor countries of Africa and South Asia (Awad & Awaad, 2017). The intensification of rearing methods and systems has created a stressful environment in the fish that can cause suppression of the immune system and increase the susceptibility of the fish to infectious diseases. In addition, many negative factors such as high stocking density, aquaculture practices, temperature, poor water quality and insufficient feeding, cause stress in the fish and increase the risk of catching a disease (Elumalai et al., 2020, Hoseinifar et al., 2020).

A wide variety of antibiotics and chemicals are used to control infectious diseases in fish farms. Although antibiotics are generally successful in treating diseases, they cause the accumulation of antibiotic residues in either the environment or fish tissues and the emergence of antimicrobial resistant species (Rossolini et al., 2014; Santos & Ramos, 2016). Vaccines used in fish farms are expensive and have a specific action against only one pathogen (Harikrishnan et al., 2011; Sakai, 1999). Therefore, there is a global trend towards the use of medicinal plants and their derivatives in aquaculture as an alternative method to prevent or control fish diseases (Harikrishnan et al., 2011; Reverter et al., 2014; Van Hai., 2015, Elumalai et al., 2020; Hoseinifar et al., 2020).

In aquaculture, some feed additives are often added to feeds to increase feed efficiency, growth performance and survival rates. As feed additives, yeasts, colorants, amino acids, antioxidants, enzymes, probiotics, prebiotics, algae, lipid derivatives, nutraceuticals, vitamins, plant extracts and certain organic acids / salts, carnitine, hormones and aromatic compounds can be listed (Kıvrak, 2017; Yazıcı & Mazlum, 2019; Mazlum et al., 2021). However, intensive and semi-intensive practices of aquaculture cause an increase in disease outbreaks and cause partial or total losses in fish production (Awad & Awaad, 2017). That is why in recent years, researchers and fish farmers have started to use in fish feed some plants and oils obtained in fish feed some plants and oils obtained from plants. It has been understood that these herbal

products are beneficial for humans and fish as well as for the environment. Some plants have been used as an inexpensive protein source instead of the protein in fish meal and it has been found that they are effective in this regard and positively affect the growth and immune system (Ngo, 2015; Ramasamy et al., 2011; Reverter et al., 2014; Hoseinifar et al., 2020).

Studies have proven that medicinal and aromatic plants have growth-promoting and stress-reducing properties in fish. First of all, medicinal and aromatic plants have started to be used because they are natural and cheap, as well as increasing the survival rate and development of aquatic animals by purifying digestive enzymes (Ngo, 2015).

Turkey in medicinal and aromatic plants has an extremely rich flora (Akalm, 2020). Rosehip (*Rosa canina* L.) plants and is one of the most important of these plants are abundant on each side of Turkey. While it has been widely used for fruit juice, jam, marmalade and tea for many years (Ercişli, 1996; Ercişli & Güleriyüz, 2005), it is a plant that has been processed for its oil in recent years (Valeron et al., 2015; Kıralan & Yıldırım, 2019). Rosehip plant is a rich source of vitamin C and is also rich in anthocyanins, phenolic ingredients and carotenoids. Used in a variety of food products as well as in the perfume and cosmetic industries. It is traditionally used to treat influenza, inflammation, and chronic pain (Guimaraes et al., 2010). In addition, phenolics are considered as phytochemicals responsible for the antioxidant activity of plant materials, so they are known as the most effective remedy against hemorrhoids and diabetes in Turkish folk medicine (Jamaa et al., 2017; Deliorman et al., 2007). Rosehip is also rich in polyunsaturated fatty acids (Szentmihályi et al., 2002). The lipid fraction of rosehip seed contains more than 50% of polyunsaturated fatty acids, and Rosehip seed oil is used in cosmetics due to its therapeutic effect on skin ailments (İlyasoğlu, 2014). It has a rich mineral source (potassium, phosphorus), vitamins (vitamin C), carotenoids and aroma components (Shnyakina & Malygina, 1975; Oszmianski & Chomin, 1993).

Although the rosehip plant well-documented the positive effects on the nutrition and immune systems of humans and animals. There is very limited information about its used as a feed supplement in aquaculture. It was studied in sturgeon "*Huso huso*" (Dadras et al., 2016), rainbow trout "*Oncorhynchus mykiss*" (Sahan et al., 2017), Russian Sturgeon "*Acipenser gueldenstaedti*" (Duman and Sahan, 2018), common carp "*Cyprinus carpio*" (Dogru et al., 2018). This is the first research to use rosehip oil in fish as feed additive. The present study, therefore aims to investigate the growth, survival rate and feed conversion

rates of fish by adding oil obtained from Rosehip plant to juvenile trout feeds.

MATERIAL AND METHOD

This research was carried out in Sapanca Inland Fisheries Production Research and Application Unit affiliated to Istanbul University Faculty of Aquatic Sciences. The trial period was planned as 90 days and was conducted between 18 February and 18 May 2020. In the research, 1,600 rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.) with an average weight of 1.7 ± 0.11 g were used. 200 fish were stocked in 8 cylindrical tanks with a capacity of 350 liters with 2 replicates. Attention was paid to ensure that the selected fish for the experiment were unvaccinated before and apparently healthy fish with no prior history of any diseases. Fish health conditions were checked visually by observing the body and fins of the fish, the absence of disease symptoms, as well as regular movements.

Before the experiment, the fish were hand-fed daily for 2 weeks with commercial trout feed until they were apparent satiation for adaptation to the experimental environment. The proximate analysis of the control feed used in the trial was done according to AOAC, 1998 (Table 1). Uneaten food and fish wastes were regularly cleaned daily. During the research, the stream water used in the unit was supplied to the tanks. Water temperature, pH and dissolved oxygen values were measured weekly and it was recorded that the pH was between 7.15-8.33, temperature 12.3-15.9 °C and dissolved oxygen 6.85-10.8 mg / l.

Table 1. Analysis of trout feed used in research*

Tablo 1. Araştırmada kullanılan alabalık yeminin analizi*

Feed Analysis	%
Ash	14.65
Crude protein	54.58
Crude fiber	0.63
Raw oil	12.05

* Kocaeli Provincial Food Control Laboratory

The rosehip oil used in the experiment was previously market researched and the oils purchased from different brands were analyzed, and as a result of this analysis, it was decided to use the best oil in the trial. Analysis of rosehip oil was made according to TS EN ISO 12966-2 standard (TS EN ISO 12966-2, 2017). Analysis results of rosehip oil used in the experiment are given in Table 2.

4 different treatments groups were prepared. Rosehip oil was first diluted in alcohol and sprayed on the feed so that it was mixed thoroughly to assure homogeneity. Rosehip oil was supplemented to basal diet as 0 mg / kg (I. Group), 2 ml / kg (II. Group), 4 ml / kg (III. Group) and 6 ml / kg (IV. Group). In the first month of the experiment, the fish were hand-fed 7-8 times a day, 5-6 times a day in the second month and 4-5 times a day in the last month until they were apparent satiation.

Table 2. Analysis results of Rosehip oil used in the trial*

Tablo 2. Araştırmada kullanılan kuşburnu yağının analiz sonuçları*

Fatty acids	(%)
Lauric acid/Dodecanoic acid C12:0	0.10
Myristic/Tetradecanoic acid C14:0	0.05
Palmitic/Hexadecanoic acid C16:0	3.78
Palmitoleic acid C16:1	0.08
Stearic/Octadecanoic acid C18:0	2.05
Oleic acid C18:1	24.43
Linoleic acid C18:2	49.02
Linolenic acid C18:3	18.74
Arachidic acid C20:0	0.89
Elcosanoic (Gadoleic) acid C20:1	0.40
Docosanoic/Eucic acid C22:1	0.16
Behenic acid C22:0	0.21

*Kocaeli Provincial Food Control Laboratory

Growth Performance Calculations

Live weight (g) measurements of the fish were made every end of month during the experiment. Fish weights were made with a scale with 0.01 g precision.

The parameters were measured according to the following formulas (Çilingir, 2017).

$$\text{Average live weight (ALW)} = W/N$$

$$\text{Live weight gain (LWG)} = W_t - W_0$$

$$\text{Specific growth rate (SGR)} = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100$$

$$\text{Relative growth rate (RGR)} = (W_t - W_0) / W_0 / t \times 100$$

$$\text{Survival rate (SR)} (\%) = N_t / N_0 \times 100$$

$$\text{Feed conversion rate (FCR)} = IT / (W_t - W_0)$$

Where W is the total weight of fish, N is the number of fish, W_t is the body weight (g) on the specific sampling day, W_0 is the initial body weight (g) at the beginning of the trial, t is feeding duration in days from the beginning of the trial until the specific sampling day, IT is the total dry diet intake (g) from the beginning of the trial to the specific sampling day, L_t is fish length (cm) on the specific sampling day.

Statistical Analysis

The data obtained in the experiment were evaluated with the one-way Anova test. While comparing the importance of various parameters examined in the experiment, the results are given as mean value and standard deviation. The distinction between groups was determined by analysis of variance and comparison of groups by Duncan multiple comparison test, and the significance level was chosen as $P = 0.05$ (Özdamar, 2001).

RESULTS

Growth performance parameters are listed in Table 3. In the I. Group where Rosehip oil was not added, the average live weight of the fish was 1.67 ± 0.02 g at the beginning of the experiment were increased to 52.03 ± 2.38 g after 90 days, fish in the II. Group (2 ml / kg) from 1.93 ± 0.01 g to 52.44 ± 1.44 g, the fish in the III. Group (4 ml / kg) from 1.88 ± 0.04 g to 52.25 ± 0.04 g and it was

determined that the fish in the IV. Group (6 ml / kg) reached from 1.84 ± 0.09 g to 55.55 ± 1.02 g. The average weight gains were also found to be 50.36 ± 2.36 g, 50.51 ± 1.44 g, 50.37 ± 0.07 g and 53.71 ± 1.12 g in the groups, respectively. Relative growth rates in the groups were determined as $3015 \pm 103\%$, $2617 \pm 85\%$, $2679 \pm 64\%$ and $2919 \pm 63\%$, respectively (Table 3).

When looking at the specific growth rate values in groups I. Group, II. Group and III. While the values

obtained in the group were the same (0.56 ± 0.02), the highest value (0.60 ± 0.01) was IV. Group (6 mg / kg) (Table 3). Considering the feed conversion ratio values, I. Group, II. Group and III. Group while 0.8 ± 0.01 in the group, it was found to be 0.7 ± 0.02 in the IV. Group. Feed consumption and total live weight gain are given in Table 3. The survival rate (SR) value in the groups was determined $98.5 \pm 1.41\%$, $97\% \pm 1.41$, $98.5 \pm 0.35\%$ and $98.5 \pm 0.07\%$ respectively (Table 3).

Table 3. Different growth parameters of trial groups.

Table 3. Deneme gruplarına ait farklı büyüme parametreleri.

	I.Group	II.Group	III.Group	IV.Group
Initial average live weight (g)	1.67 ± 0.02	1.93 ± 0.01	1.88 ± 0.04	1.84 ± 0.09
Final average live weight (g)	52.03 ± 2.38	52.44 ± 1.44	52.25 ± 0.04	$55.55 \pm 1.02^*$
Average weight gain (g)	50.36 ± 2.36	50.51 ± 1.44	50.37 ± 0.07	$53.71 \pm 1.12^*$
Relative growth rate (%)	3.015 ± 103	2.617 ± 85	2.679 ± 64	2.919 ± 63
Specific growth rates (%)	0.56 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.56 ± 0.02	$0.60 \pm 0.01^*$
Survival rate (%)	98.5 ± 1.41	97.0 ± 1.41	98.5 ± 0.35	98.5 ± 0.07
Total feed consumption (g)	7.875	7.725	7.815	7.475
Total live weight gain (g)	9.915 ± 0.32	9.787 ± 0.13	9.892 ± 0.02	$10.732 \pm 0.23^*$
Feed conversion rate	0.8 ± 0.01	0.8 ± 0.01	0.8 ± 0.00	$0.7 \pm 0.02^*$

(*) Values marked with * are statistically significant from other groups ($p < 0.05$)

DISCUSSION AND CONCLUSION

In this study, the effect on growth and feed utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed with feeds containing different ratios of rosehip oil (*R. canina*) survival rate was firstly examined and discussed in comparison with previous studies.

Ahmad et al., (2016) reported that rosehip plant contains 3.78% palmitic acid, 0.08% palmitoleic acid, 24.43%, oleic acid, 49.02% linoleic acid, 18.74% and 18.74% linolenic acid in the chemical composition. Analysis results of Rosehip oil that we used in our study were found to be 3.54%, 0.06%, 20.30%, 51.67% and 19.08%, respectively, according to the above values, and these results are close to the results found by Ahmad et al., (2016).

Studies on adding medicinal and aromatic plants to fish feed have been gained importance in recent years. When some medicinal and aromatic plants and extracts obtained from them are added to fish feeds, positive effects such as weight gain, specific growth rate and increase in feed efficiency ratio and reduction in feed conversion ratio have been determined (Aly, et al., 2008; Aly & Mohamed, 2010; Immanuel et al., 2009; Ji et al., 2007; Nya & Austin, 2009a, 2009b; Punitha et al., 2008; Shalaby et al., 2006). It has been reported that garlic, onion, marjoram, cumin, basil, anise, fennel, icoria, black cumin and fenugreek stimulate the growth of fish (Sivaram et al., 2004). Mahdavi et al., (2013) reported that the addition of aloe vera extract in different ratios (0.1, 0.5 and 2.5%) to carp (*Cyprinus carpio*) fish feeds had a positive effect on the development of the fish as a result of feeding for 8 weeks

and had an appetite-enhancing feature. Zheng, (2009) reported that feed conversion ratio decreased, weight gain, specific growth rate and survival rates increased in catfish fed with feeds with added marjoram (*O. vulgare*) essential oil. Gabor et al., (2011) reported that they added 1% ginger, 2% garlic, 1% thyme and 2% echinacea to rainbow trout feed, and a significant increase was observed in the final weight value, bodyweight, specific growth rate and proportional growth rates of fish. Acar, (2018) also suggested that St. John's Worth Oil (*Hypericum perforatum*) supplemented to the carp diet at the rate of 5 g / kg in the ration can be used without any negative effects on growth performance and blood parameters.

In our study, it was observed that the addition of rosehip oil to rainbow trout diets positively affected their development. The best growth rate was obtained in the group to which 6 mg / kg (IV. Group) rosehip oil was added and this value was found to be statistically significant compared to the control group ($P < 0.05$). Whereas, Dadras et al., (2016) found that rosehip (*Rosa canina*) and safflower (*Carthamus tinctorium*) was added to juvenile *Huso huso* feeds in different proportions and there were no significant differences in feed conversion ratio (FCR), specific growth rate (SGR) and condition factor (K) but they found that there are significant differences in white blood cell (WBC) and hemoglobin (Hb) values. The best results were obtained in the group with 2% rosehip and safflower added and these results were observed to be significant compared to the control groups. In our study, it was determined that the rosehip oil plays an important role in the development of fish due to the use of oil instead of the plant.

Çilingir, (2017) reported that amber (*Hypericum perforatum*) oil added to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets had an effect on growth performance, some environmental stress parameters and antioxidant activity. Kıvrak, (2017) observed that rosemary (*Rosmarinus officinalis*) oil has effects on the growth performance, hematological and biochemical parameters in rainbow trout, and that the addition of rosemary oil is not effective in fish feed intake. In our study, it was determined that the addition of rosehip oil plant to trout feed, it was effective in the increase in live weight and specific growth rates in fish, but not in the survival rate.

In conclusion, it is well-known that the use of suitable feed for feeding during the juvenile period of rainbow trout has a positive contribution to the development and survival rates of fish. In recent years, with the addition of natural additives to fish feed, there has been an increase in fish development, survival rate, feed evaluation and increasing the immune system. This research has been a preliminary study on the use of rosehip oil in fish feed. It has been determined that the oil obtained from the rosehip plant has a positive effect on the growth and feed utilization rate of fish with the addition of the feeds of rainbow trout. Additionally, studies need to be carried out on the use of rosehip oil in different ratios to different fish species feed. Further studies can also be carried out to determine the hematological parameters, immune parameters, and resistance of diseases of fish fed with rosehip oil or rosehip.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Kocaeli University Scientific Research Projects Coordinator (Project No: FYL-2020/2086) for supporting this study summarized from the master's thesis.

REFERENCES

- Acar, Ü. (2018). Sarı kantaron (*Hypericum perforatum*) yağının sazan yavrularının (*Cyprinus carpio*) büyüme performansı ve bazı kan parametreleri üzerine etkisi. *Alinteri Zirai Bilimler Dergisi*, 33(1), 21-27. DOI: 10.28955/alinterizbd.343202
- Ahmad, N., Anwar, F. & Gilani, A.U. (2016). Rose hip (*Rosa canina* L.) oils. In: Preedy, V.R. (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Academic Press, 667-675. DOI: 10.1016/B978-0-12-416641-7.00006-7
- Akalın, E., Gurdal, B. & Olcay, B. (2020). General overview on the conservation of medicinal plants in Turkey. *Turkish Journal of Biodiversity*, 3(2), 86-94.
- Aly, S.M., Atti, N.M.A. & Mohamed, M.F. (2008). Effect of garlic on the survival growth resistance and quality of *Oreochromis niloticus*. *8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Cairo, Egypt, 12-14 Oct 2008.
- Aly, S.M. & Mohamed, M.F. (2010). Echinacea purpurea and allium sativum as immunostimulants in fish culture using Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 94(5), 31-39. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2009.00971.x.
- AOAC. (1998). *Official Methods of Analysis*. 16th Edition, Official Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA. Method 968.08.
- Awad, E. & Awaad, A. (2017). Role of medicinal plants on growth performance and immune status in fish. *Fish Shellfish Immunology*, 67, 40-54. DOI: 10.1016/j.fsi.2017.05.034
- Çilingir, Ç. (2017). *Gökkuşuğu alabalığı (Oncorhynchus mykiss) yemlerine farklı oranlarda ilave edilen kantaron yağının (Hypericum perforatum) büyüme performansı, bazı çevresel stres parametreleri ve antioksidan aktivitesi üzerine etkilerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 472418.
- Dadras, H., Hayatbakhsh, M.R., Shelton, W.L. & Golpour, A. (2016). Effects of dietary administration of rose hip and safflower on growth performance, haematological, biochemical parameters and innate immune response of Beluga, *Huso huso* (Linnaeus, 1758). *Fish & Shellfish Immunology*, 59, 109-114. DOI: 10.1016/j.fsi.2016.10.033
- Deliorman, O.D., Hartevioğlu, A., Küpeli, E. & Yeşilada, E. (2007). In Vivo Anti-Inflammatory and Antinociceptive Activity of The Crude Extract and Fractions From *Rosa canina* L. fruits, *Journal of Ethnopharmacology*, 112, 394-400. DOI:10.1016/j.jep.2007.03.029
- Dogru, A., Polat, H., Orun, I., Erdogan, K., Kandemir, S., Yilmaz, S., Orun, G., Akgül, H. & Dogru, M.I. (2018). The effect of rosehip (*Rosa canina* L.) plant extract application on serum ACTH, cortisol and aldosterone hormone levels of carp (*Cyprinus carpio* L.) *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(4), 2051-2056.
- Duman, S. & Sahan, A. (2018). Some hematological and non-specific immune responses of rosehip (*Rosa canina*)-Fed Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833) to *Mycobacterium salmoniphilum*. *Brazilian Archives Biology and Technology*, 61, 1-17. DOI: 10.1590/1678-4324-2018180283
- Elumalai, P., Kurian A., Lakshmi, S., Faggio, C., Esteban, M.A. & Ringo, E. (2020). Herbal immunomodulators in aquaculture. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 1-25. DOI: 10.1080/23308249.2020.1779651
- Ercişli, S. (1996). *Selection and propagation of rose hips are naturally grown in Gümüşhane district*. Ph.D. Thesis, Atatürk University, Erzurum. 167p.

- Ercişli, S & Güleriyüz, M. (2005). Rosehip Utilization in Turkey. *Acta Horticulturae*, 77-82. DOI: [10.17660/ActaHortic.2005.690.10](https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.690.10)
- Gabor, E.F., Şara, A., Molnar, F. & Benţea, M. (2011). The Influence of some phytoadditives on growth performances and meat quality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 44, 1-2.
- Guimaraes, R., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R. (2010). Studies on chemical constituents and bioactivity of *Rosa micrantha*: an alternative antioxidant source for food, pharmaceutical, or cosmetic applications. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 58, 6277-6284. DOI: [10.1021/jf101394w](https://doi.org/10.1021/jf101394w)
- Harikrishnan, R., Balasundaram, C.M.S. & Heo, M-S. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture* 317(1-4), 1-15. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2011.03.039](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.039)
- Hoseinifar, S.H., Sun, Y.Z., Zhou, Z., Doan, H. Van, Davies, S.J. & Harikrishnan, R. (2020). Boosting immune function and disease bio-control through environment-friendly and sustainable approaches in finfish aquaculture: herbal therapy scenarios. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 1-19, DOI: [10.1080/23308249.2020.1731420](https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1731420)
- Immanuel, G., Uma, R.P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha, P.S.M., Michael B.M. & Palavesam, A. (2009). Dietary medicinal plant extracts improve growth, immune activity and survival of Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Journal of Fish Biology*, 74, 1462-1475. DOI: [10.1111/j.1095-8649.2009.02212.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02212.x)
- İlyasoğlu, H. (2014). Characterization of rosehip (*Rosa canina* L.) seed and seed oil. *International Journal of Food Properties*, 17, 1591-1598. DOI: [10.1080/10942912.2013.777075](https://doi.org/10.1080/10942912.2013.777075)
- Jamaa, B.H., Jemia, B.A., Khelifi, S., Halima, B.A., Fethi, B.S., Benzarti, A., Elati J. & Aouidet A. (2017). Antioxidant Activity and α -Amylase Inhibitory Potential of *Rosa canina* L.. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(2), 1-8. DOI: [10.21010/ajtcam.v14i2.1](https://doi.org/10.21010/ajtcam.v14i2.1)
- Ji, S.C., Jeong, G.S., Im, G.S., Lee, S.W., Yoo, J.H. & Takii, K. (2007). Dietary medicinal herbs improve growth performance, fatty acid utilization, and stress recovery of Japanese flounder. *Fisheries Science*, 73, 70-76. DOI: [10.1111/j.1444-2906.2007.01303.x](https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2007.01303.x)
- Kıralan, M. & Yıldırım, G. (2019). Rosehip (*Rosa canina* L.) oil. *fruit oils: Chemistry and Functionality* (803-814pp) DOI: [10.1007/978-3-030-12473-1_43](https://doi.org/10.1007/978-3-030-12473-1_43)
- Kıvrak, E. (2017). Gökkuşluğu (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum 1792)'nin yemlerine biberiye biki (*Rosmarinus officinalis*) yağı ilavesinin balıkların büyüme performansı ve bazı kan parametrelerine olan etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 472409.
- Mahdavi, M., Hajimoradloo, A. & Ghorbani, R. (2013). Effect of aloe vera extract on growth parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *World Journal of Medical Science*, 8(1), 55-60. DOI: [10.5829/idosi.wjms.2013.9.1.75128](https://doi.org/10.5829/idosi.wjms.2013.9.1.75128)
- Mazlum, Y., Yazıcı, M., Sayın, S., Habiboğlu, O. & Sinem, U. (2021). Effects of two different macroalgae (*Ulva lactuca* and *Jania rubens*) species on growth and survival of juvenile red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) as feed additive. *Marine Science and Technology Bulletin*. DOI: [10.33714/masteb.820627](https://doi.org/10.33714/masteb.820627)
- Ngo, V.H. (2015). The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*, 446, 88-96. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2015.03.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.014)
- Nya, E.J. & Austin, B. (2009a). Use of garlic, *Allium sativum*, to control *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32, 963-970. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01100.x)
- Nya, E.J. & Austin, B. (2009b). Use of dietary ginger *Zingiber officinale* Roscoe as an immunostimulant to control *Aeromonas hydrophila* infections in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32, 971-977. DOI: [10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2009.01101.x)
- Oszmianski, J. & Chomin, W. (1993). Experimental commercial manufacture of high vitamin C cloudy juice from *Rosa rugosa* fruits. *Przemysł Fermentacyjny i Owocowo Warzywny*, 37, 16-17.
- Özdamar, K. (2001). Tıp Biyoloji Eczacılık ve Diş Hekimliği Öğrencileri için SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Kitabevi, 452 s.
- Punitha, S.M.J., Babu M.M., Sivaram V., Shankar V.S., Dhas S.A., Mahesh T.C., Immanuel, G. & Citarasu, T. (2008). Immunostimulating influence of herbal biomedicines on non-specific immunity in grouper epinephelus tauvina juvenile against *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture International*, 16, 511-523. DOI: [10.1007/s10499-007-9162-6](https://doi.org/10.1007/s10499-007-9162-6)
- Ramasamy, H., Chellam, B. & Moon, S.H. (2011). Impact of plant products on innate and adaptive immune system of cultured finfish and shellfish. *Aquaculture*, 317(4), 1-15. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2011.03.039](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.039)
- Reverter, M., Bontemps, N., Lecchini, D., Banaigs, B. & Sasal, P. (2014). Use of plant extracts in fish aquaculture as an alternative to chemotherapy: current status and future perspectives. *Aquaculture*, 433, 50-61. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2014.05.048](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.05.048)
- Rossolini, G.M., Arena, F., Pecile, P. & Pollini, S. (2014) Update on the antibiotic resistance crisis. *Current Opinion in Pharmacology*, 18, 56-60. DOI: [10.1016/j.coph.2014.09.006](https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.09.006)

- Sahan, A., Duman, S, Özese, Ç.S., Çinar, E. & Bilgin, R. (2017). Determination of some hematological and non-specific immune defences, oxidative stress and histopathological status in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed rosehip (*Rosa canina*) to *Yersinia ruckeri*. *Turk Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **17**, 91-100. DOI: [10.4194/1303-2712-v17_1_11](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17_1_11)
- Sakai M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, **172**, 63-92. DOI: [10.1016/S0044-8486\(98\)00436-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00436-0)
- Santos, L. & Ramos, F. (2016). Analytical strategies for the detection and quantification of antibiotic residues in aquaculture fishes: a review. *Trends in Food Science & Technology*, **52**, 16-30. DOI: [10.1016/j.tifs.2016.03.015](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.03.015)
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., & Abdel Rahman, A.M. (2006). Effects of garlic (*Allium sativum*) and chloramphenicol on growth performance, physiological parameters and survival of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, **12**, 172-201. DOI: [10.1590/S1678-91992006000200003](https://doi.org/10.1590/S1678-91992006000200003)
- Shnyakina, G.P. & Malygina, E.P. (1975). Vitamins and phenolic compounds in the fruits of rosa species growing in the soviet far east. *Rastitel Onye resursy*, **11**, 390-394.
- Sivaram, V., Babu, M.M., Immanuel, G., Murugadass, S., Citarasu, T. & Marian M.P. (2004). Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture*, **237**, 9-20. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2004.03.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.03.014)
- Szentmihályi, K., Vinkler P., Lakatos, B., Illes, V & Then M. (2002). Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. *Bioresource Technology*, **82**, 195-201. DOI: [10.1016/S0960-8524\(01\)00161-4](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(01)00161-4)
- TS EN ISO 12966-2. (2017). *Hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağlar- yağ asitleri metil esterlerinin gaz kromatografisi - Bölüm 2: Yağ asitleri metil esterlerinin hazırlanması*. TSE yayınları, Ankara
- Valeron, A.P., Gómez-Duaso, A., Santana-Molina, N., García Bello, M. & Carretero, G. (2015). Evolution of post-surgical scars treated with pure rosehip seed oil. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, **5**, 161-167. DOI: [10.4236/jcdsa.2015.52019](https://doi.org/10.4236/jcdsa.2015.52019)
- Van Hai, N. (2015). The use of medicinal plants as immunostimulants in aquaculture: A review. *Aquaculture*, **446**, 88-96. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2015.03.014](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.03.014)
- Yazıcı, M. & Mazlum, Y. (2019). Karides ve kerevit yetiştiriciliğinde prebiyotik uygulamalar. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, **22**(1), 153-163. DOI: [10.18016/ksutarimdoga.vi.471559](https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.471559)
- Zheng, G., Gong, S., Yu, D. & Yuan, H. (2009). Propolis and herba epimedii extracts enhance the non-specific immune response and disease resistance of Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*. *Fish & Shellfish Immunology*, **26**(3), 467-472. DOI: [10.1016/j.fsi.2009.01.011](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.01.011)



Aksu Kayabalığı, Ponticola turani (Kovačić & Engin, 2008)'nin Sakkular Otolit Morfometrisi [*]

Muhammet Mustafa SAKALLI Savaş YILMAZ*

¹Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye

Geliş/Received: 08.02.2021

Kabul/Accepted: 07.03.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atf yapmak için: Yılmaz, S. & Sakallı, M. M. (2021). Aksu Kayabalığı, Ponticola turani (Kovačić & Engin, 2008)'nin Sakkular Otolit Morfometrisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 224-231.

How to cite: Yılmaz, S. & Sakallı, M. M. (2021). Saccular Otolith Morphometry of Aksu Goby, Ponticola turani (Kovačić & Engin, 2008). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 224-231.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6979-6495>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5807-2002>

***Sorumlu yazarın:**

Savaş YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Edebiyat
Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye
✉: [sasavas.yilmaz@omu.edu.tr](mailto:savas.yilmaz@omu.edu.tr)

Öz: Aksu Kayabalığı, *Ponticola turani* (Kovačić & Engin, 2008) Türkiye'ye endemik bir tatlısu balığıdır. Bu çalışmada, Haziran 2015- Ağustos 2016 tarihleri arasında Terme Çayı (Samsun)'ndan toplanan Aksu Kayabalığı'nın sakkular otolit ölçümleri ile somatik büyümesi arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Ayrıca şekil indeksleri kullanılarak türün sakkular otolit şekli tanımlanmıştır. Elektroşok cihazı ile toplam 232 birey yakalanmıştır. Sakkular otolitlerin boyu, yüksekliği, çevresi, alanı ve ağırlığı kaydedilmiştir. Sakkular otolit değişkenleri ile balık somatik büyümesi arasındaki ilişkiler üssel fonksiyonla tanımlanmıştır. Söz konusu ilişkiler, sol-sağ bölge ve dişi-erkek bireyler arasında farklılık göstermemiştir. Tüm ilişkiler oldukça önemli çıkmıştır ($P<0,001$ ve $R^2>0,84$). Balık boyu ve ağırlığı ile en güçlü ilişkiyi gösteren ölçüm sırasıyla %92 ile otolit çevresi ve %90 ile otolit ağırlığı olmuştur. Şekil indeksleri, Aksu Kayabalığı otolitlerinin geometrik olarak düzensiz ve dikdörtgen şeklinde olduğunu doğrulamıştır. Bu araştırma Aksu Kayabalığı'nın otolit morfometrisi üzerine ilk çalışmadır.

Anahtar kelimeler: Otolit biyometrisi, *Ponticola turani*, sagitta, şekil indeksi.

Saccular Otolith Morphometry of Aksu Goby, Ponticola turani (Kovačić & Engin, 2008)

***Corresponding author's:**

Savaş YILMAZ
Ondokuz Mayıs University, Sciences and
Arts Faculty, Biology Department, Samsun,
Turkey
✉: [sasavas.yilmaz@omu.edu.tr](mailto:savas.yilmaz@omu.edu.tr)

Abstract: Aksu goby, *Ponticola turani* (Kovačić & Engin, 2008) is a freshwater fish endemic to Turkey. In this study, the relationships between saccular otolith measurements and somatic growth of Aksu goby collected from Terme Stream (Samsun) between June 2015 and August 2016 were examined. In addition, the saccular otolith shape of this species was defined by using shape indices. A total of 232 specimens were caught with the electroshock device. The saccular otolith length, height, perimeter, area and weight were recorded. The relationships between saccular otolith variables and fish somatic growth were described with a non-linear function (power model). These relationships did not differ between left-right sides and between female and male individuals. All relationships were highly significant ($P<0.001$, $R^2>0.84$). The measurement most strongly with related to fish length and weight was otolith perimeter, with 92% of the variability and otolith weight, with 90%, respectively. Shape indices confirmed that the otoliths of Aksu goby are geometrically irregular and rectangular. This research is the first study on the saccular otolith morphometry of Aksu goby.

Keywords: Otolith biometry, *Ponticola turani*, sagitta, shape index.

GİRİŞ

Kemikli balıklarda iç kulak bölgesi otik kapsül kemikleri içerisinde yer alır. Her bir kulakta üç adet yarım daire kanalı ve kese şeklinde boşluklar bulunur. Bu keselere sakkulus, lagena ve utrikulus adı verilmektedir.

[*] Bu çalışma, yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Keselerdeki kalsiyum karbonat kökenli cisimlere de "otolit" denmektedir. Sakkulustaki "sagitta", lagenadaki "asteriskus" ve utrikulustaki "lapillus" olarak adlandırılmaktadır (Secor vd., 1992). Denge ve iştme

This study was produced from the master thesis.

organı olarak görev yapan otolitler (Campana, 1999), büyüklük ve şekil bakımından balık türleri arasında önemli farklılıklar gösterirler (Campana & Thorrold, 2001). Kemikli balıkların çoğunda en büyük otolit sagitta iken en küçüğü lapillustur. Buna karşılık Cypriniformes ve Siluriformes takımlarına ait türlerde (ostaryofizyan balıklar) lapillus daha büyük iken, sagitta daha küçüktür (Campana, 2004). Sagittal ve lagenar otolitlerin şekli türler arasında daha fazla değişkenlik göstermesine karşılık, utrikular otolitlerin şekli daha az değişkenlik gösterir (Campana, 2004).

Balıklarda yaş tayini (Arslan & Yazıcı, 2020; Bostancı vd., 2009; Vilizzi & Copp, 2013; Yazıcı vd., 2014), büyüme parametrelerinin tahmin edilmesi (Santic vd., 2013; Yazıcı vd., 2015), stok veya popülasyon ayrımı (Canas vd., 2012; Özpiçak vd., 2018), tür tanımlaması (Assis, 2005; Bani vd., 2013; Bostancı vd., 2015) ve eko-morfolojik analizler (Tuset vd., 2010; Volpedo & Echeverria, 2003) gibi birçok alanda otolitlerden yararlanılmaktadır.

Otolitler üzerine yapılan taksonomik ve biyometrik çalışmalar, piskivor canlılar tarafından tüketilen balık türlerinin tanımlanması ve boyutlarının geri hesaplanması açısından oldukça önemlidir (Battaglia vd., 2015). Bu amaçla yayınlanmış birçok otolit atlası ve tanımlama kılavuzu mevcuttur (Baremore & Bethea, 2010; Bremm & Schulz, 2014; Sadighzadeh vd., 2012; Tuset vd., 2008). Benzer şekilde arkeolojik ve paleontolojik kazılar esnasında elde edilen otolitlerden yola çıkarak paleoçevre ve paleofaunanın yeniden ortaya konulması da mümkündür (Schulz-Mirbach & Reichenbacher, 2006).

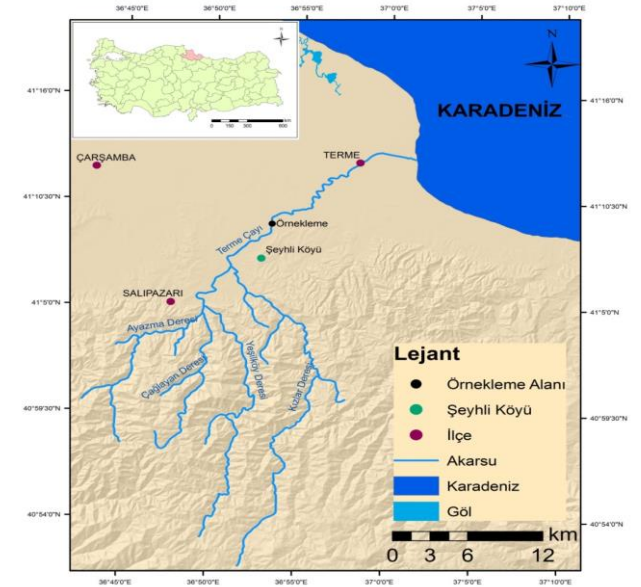
Ponticola İljin, 1927 Gobiidae familyasının 258 geçerli genusundan biridir (Fricke vd., 2020). Başlangıçta *Neogobius*'un bir altcinsi olarak tanımlanmış olan bu genus, yapılan moleküler analizler neticesinde cins seviyesine çıkarılmıştır (Neilson & Stepien, 2009). *Ponticola* cinsinin üyeleri Karadeniz ve Hazar Denizi'ne endemik olan balıklardır (Freyhof, 2011). Son veriler, Karadeniz ve Hazar Denizi havzalarında tanımlanmış 18 geçerli *Ponticola* türü olduğunu göstermektedir (Fricke vd., 2020). Türkiye'nin tatlısu balık faunasının güncellenmiş tür listesine göre iç sularımızda *Ponticola* cinsinin 6 türü bulunmaktadır ve bunlardan ikisi ülkemiz için endemiktir (Çiçek vd., 2020).

Ponticola turani, 2008 yılında Giresun ilindeki Aksu Çayı'ndan tanımlanan endemik bir kayabalığı türüdür (Kovačić & Engin, 2008). Tamamıyla tatlısu habitatına uyum sağlamış 6 *Ponticola* türünden (*P. constructor*, *P. iranicus*, *P. patimari*, *P. platystris*, *P. rizensis*, *P. turani*) biridir (Fricke vd., 2020). Aksu Kayabalığı, Uluslararası Doğayı Koruma Birliği (IUCN) tarafından yayınlanan Nesli Tükenme Tehlikesi Altında Olan Türlerin Kırmızı Listesi'nde "hassas" kategorisinde

sınıflandırılmaktadır (Freyhof, 2014). Türle ilgili az sayıda çalışma yapılmıştır (Kovačić & Engin, 2008; Saygun vd., 2017; Yılmaz & Sakallı, 2020). Bu çalışmada, Samsun ilindeki Terme Çayı'ndan elde edilen *P. turani* bireylerinin sakkular otolit morfometrisi incelenmiştir.

MATERYAL ve METOT

Terme Çayı, Türkiye'nin Orta Karadeniz bölgesindeki Samsun ilinin doğusunda yer alır. Canik Dağları'nın kuzey yamaçlarından (1100-1300 m) doğan Yeşilköy, Ayazma ve Çağlayan derelerinin birleşmesiyle oluşur. Terme Çayı, Şeyhli Köyü yakınlarında doğudan gelen Kızlar deresini alarak kuzeydoğuya doğru ilerler. Terme ilçesinin 4 km doğusunda bulunan Çaltı Burnu'ndan Karadeniz'e dökülür (Şekil 1). Membadan mansaba toplam uzunluğu yaklaşık 55 km'dir (Uncu, 1995). Uğurlu (2006), Terme Çayı'ndan 14 türün varlığını bildirmiştir: *Alburnus derjugini*, *Babka gymnotrachelus*, *Barbus tauricus*, *Carassius gibelio*, *Capoeta tinca*, *Neogobius fluviatilis*, *Oncorhynchus mykiss*, *Ponticola turani*, *Rhodeus amarus*, *Rutilus rutilus*, *Salmo labrax*, *Squalius sp.*, *Syngnathus abaster* ve *Vimba vimba*.



Şekil 1. Terme Çayı haritası ve örneklem istasyonu (Yılmaz & Sakallı, 2020).

Figure 1. The map of Terme Stream and sampling station (Yılmaz & Sakallı, 2020).

P. turani örnekleri (Şekil 2) Haziran 2015-Ağustos 2016 tarihleri arasında Terme Çayı'nda belirlenen tek istasyondan (41° 09' Kuzey ve 36° 53' Doğu) elde edilmiştir. Örneklemde SAMUS 725MP marka elektroşok cihazı kullanılmıştır. Yakalanan balıklardan birkaçı tür teşhisi için %4'lük formaldehit çözeltisinde saklanmıştır. Diğer tüm numuneler soğutucu içinde laboratuvara getirilmiş ve sonrasında -18 °C'de dondurulmuştur. Formaldehit çözeltisindeki örnekler

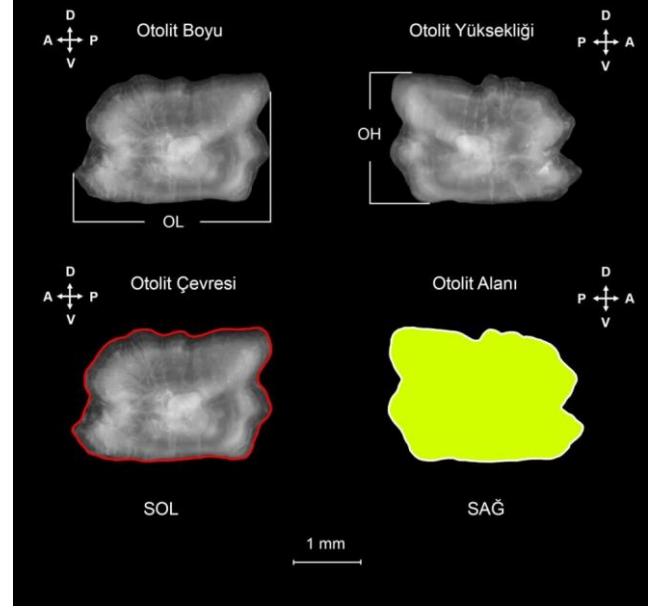
Kovačić & Engin, (2008)'e göre teşhis edilmiştir. Dondurulmuş balıklar oda sıcaklığında çözündürülmüş, musluk suyu ile yıkanmış ve kâğıt havlu ile kurulanmıştır. Her bir numunenin total boyu (TB) $\pm 0,01$ mm hassasiyetle ölçülmüş ve ağırlığı $\pm 0,01$ g hassasiyetle tartılmıştır. Eşey tayini gonadların makroskobik incelenmesiyle yapılmıştır. Sağ ve sol sakkular otolitler (sagitta) alınarak saf suda temizlenmiş, %96'lık etil alkolde bekletilmiş ve 103 °C'lik etüvde kurularak ependorf tüplerinde saklanmıştır.



Şekil 2. Aksu Kayabalığı, *Ponticola turani* (orijinal).
Figure 2. Aksu Goby, *Ponticola turani* (original).

Her bir örneğin sağ ve sol otolit ağırlığı (OW, mg), $\pm 0,0001$ g hassasiyetle tartılmıştır. Ancak işlem kolaylığı için ağırlıklar miligramla dönüştürülmüştür (Bani vd., 2013). Tüm otolitlerin distal yüzeyinden Leica S8APO marka mikroskoba bağlı Leica DFC295 dijital kamera ile fotoğrafları çekilmiştir. Otolit boyu (OL, mm), otolit yüksekliği (OH, mm), otolit çevresi (OP, mm) ve otolit alanı (OA, mm²), Leica Application Suit ver. 3.8 Görüntü Analiz Programı kullanılarak ölçülmüştür. OL, OH ve OP'nin ölçümünde $\pm 0,001$ mm hassasiyet, OA'nın ölçümünde ise $\pm 0,001$ mm² hassasiyet dikkate alınmıştır. Otolitin anterior ve posterior kenarları arasındaki en uzun mesafe OL, dorsal ve ventral kenarları arasındaki en uzun mesafe OH (Battaglia vd., 2010), otolit tüm kenarlarının toplam uzunluğu OP ve otolit yüzey alanı ise OA olarak tanımlanmıştır (Şekil 3). Sağ ve sol otolitler ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Otolit ölçümleri ile balık total boyu ve ağırlığı arasındaki ilişkiler (TB-OL, TB-OH, TB-OW, TB-OP, TB-OA, W-OL, W-OH, W-OW, W-OP, W-OA) üssel regresyon ($y=ax^b$) modeli kullanılarak belirlenmiştir (Leonart vd., 2000). Sağ ve sol otolitler için ayrı ayrı üretilen söz konusu ilişkilerin denklem katsayıları arasındaki fark ANCOVA testi (Zar, 1999) ile kontrol edilmiştir. Eğer denklem katsayıları istatistiksel olarak farklı değilse sağ otolit ölçümleri kullanılarak her bir parametre için tek bir denklem rapor edilmiştir. Benzer şekilde dikkate alınan ilişkilerin denklem katsayılarının eşeyler arasında farklılık gösterip göstermediği ANCOVA testi (Zar, 1999) ile tespit edilmiştir. Denklem katsayıları arasında fark olmadığı durumda örneklem genelinde her bir ölçüm için sadece bir denklem verilmiştir (Battaglia vd., 2010). Regresyonların önemliliği ANOVA ile belirlenmiştir.



Şekil 3. *P. turani*'nin sakkular otolitinde distal görünüm ve ölçümler (D, dorsal; V, ventral; A, anterior; P, posterior).
Figure 3. Distal view and measurement axes of the saccular otolith of *P. turani* (D, dorsal; V, ventral; A, anterior; P, posterior).

Her bir ilişkinin kuvvetliliği hem R^2 hem de ortalama yüzde tahmin hatası değerleriyle ölçülmüştür. Herhangi bir regresyon için ortalama yüzde tahmin hatası, tüm bireyler için hesaplanan yüzde tahmin hatası (%TH) değerlerinin ortalaması alınarak bulunmuştur. Bir örnek için yüzde tahmin hatası $\%TH = (|X_g - X_t| / X_t) \times 100$ bağıntısıyla hesaplanmıştır (Smith, 1980). Bağıntıda X_g gözlenen boy ya da ağırlık, X_t ise tahmin edilen boy ya da ağırlıktır. Her bir otolit ölçümü için gözlenen ve tahmin edilen TB ve W değeri arasındaki fark Mann-Whitney U testi ile sınanmıştır. Beş otolit ölçümünün %TH değerleri arasındaki farklılık ANOVA testi kullanılarak karşılaştırılmıştır (Zar, 1999). Otolit ölçümlerinin birbirleriyle olan ilişkileri (OL-OH, OL-OW, OL-OP, OL-OA, OH-OW, OH-OP, OH-OA, OP-OW, OA-OW, OP-OA) üssel ($y=ax^b$) regresyonla elde edilmiştir. Regresyonların önemliliği ANOVA kullanılarak tespit edilmiştir.

Otolit ölçümleri kullanılarak tüm örnekler için altı farklı şekil indeksi (Tablo 1) değeri hesaplanmıştır. Şekil faktörü indeksi, otolit yüzey alanı düzensizliği için bir değerlendirme imkânı sağlar. Bu indeks otolit mükemmel bir daire şeklinde olduğunda 1 değerini, düzensiz olduğunda ise <1 değer verir. Boy-yükseklik oranının büyük olması otolit daha uzun olduğunu gösterir. Dairesellik ve yuvarlaklık, mükemmel bir daire şekli için değişik özelliklerin benzerliğine işaret eder. Dairesellik minimum 4π , yuvarlaklık ise minimum 1 değerini alır. Dikdörtgensellik, otolit alanı ile ilgili olarak boy ve yükseklik varyasyonunu tanımlar ve mükemmel bir kare şeklinde 1 değerindedir. Ovallık, otolit eksen

uzunluklarındaki değişimlerin orantılı olmadığını gösterir (Bani vd., 2013; Russ, 1990).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan otolit şekil indeksleri ve formülleri.

Table 1. Otolith shape indices and their formulas.

Değişken	Şekil İndeksi	Formül
OA	Şekil Faktörü	$(4\pi OA) / OP^2$
OP	Boy-Yükseklik Oranı	OL / OH
OL	Dairesellik	OP^2 / OA
OH	Yuvarlaklık	$(4OA) / (\pi OL^2)$
	Dikdörtgensellik	$OA / (OL \times OH)$
	Ovallık	$(OL - OH) / (OL + OH)$

Her bir şekil indeksine ait ortalama, standart hata, standart sapma, minimum ve maksimum değerler verilmiştir. Şekil indeksleri sağ-sol bölge ve dişi-erkek bireyler arasında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Eşeyler arası karşılaştırma yapılmadan önce, her bir indeksin balık boyu ile olan korelasyonu kontrol edilmiştir. Kuvvetli korelasyon gözlenen şekil indeksleri $M_s = M_o \times (\bar{x}/x)^b$ formülü ile standart hale getirilmiştir (Elliott vd., 1995; Leonart vd., 2000). Formülde M_s standardize edilmiş şekil indeksini, M_o orijinal şekil indeksi değerini, \bar{x} dişi ve erkek bireylerin total boy ortalamasını (73,72 mm), x her bir örneğin total boyunu, b orijinal şekil indeksi ile balık boyu arasındaki üssel ilişkinin b değerini göstermektedir.

Bu çalışmada, herhangi bir istatistiksel analiz yapmadan önce tüm verilere normallik (Kolmogorov-Smirnov testi) ve varyans eşitliği (Levene's testi) testleri uygulanmıştır. Normal dağılımın sağlandığı durumlarda parametrik, sağlanmadığı durumlarda parametrik olmayan testler kullanılmıştır. İstatistiksel analizler, Minitab 17 ve SPSS 21 paket programlarında gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Örnekleme periyodu boyunca 140 dişi, 74 erkek ve 18 eşeyi belirlenemeyen olmak üzere toplam 232 birey elde edilmiştir. Örneklerin total boyları 45,13-107,59 mm ve ağırlıkları 1,09-12,92 g arasında dağılım göstermiştir. Dişi ve erkek bireylerin ortalama total boyları (Mann-Whitney U testi, $P < 0,001$) ve ağırlıkları (İki örneklem t-testi, $P < 0,001$) arasında istatistiksel fark tespit edilmiştir. Benzer şekilde, eşeylerin total boy (Kolmogorov-Smirnov testi, $Z=3,498$, $P < 0,001$) ve ağırlık dağılımlarının (Kolmogorov-Smirnov testi, $Z=3,216$, $P < 0,001$) farklı olduğu görülmüştür.

Sağ ve sol otolitler için ayrı ayrı elde edilen denklemlerin katsayıları arasında önemli bir fark tespit edilememiştir (Tablo 2). Bu nedenle sağ otolit ölçümleri tercih edilerek her bir değişken için bir regresyon denklemi verilmiştir. Üretilen regresyon denklemleri eşeyler arasında da farklılık göstermemiştir (Tablo 3). Sonuç

olarak, tüm bireylerin sağ otolit ölçümleri kullanılarak her bir değişken için tek denklem bildirilmiştir.

Tablo 2. *P. turani*'nin sağ ve sol otolitleri için elde edilen üssel regresyonların katsayıları arasında karşılaştırma.

Table 2. Comparison between the coefficients of nonlinear (power) regressions obtained for right and left otoliths of *P. turani*.

Eşey	İlişki	ANCOVA Testi		İlişki	ANCOVA Testi	
		F	P		F	P
Dişi	TB-OL	0,08	0,779	W-OL	0,06	0,802
	TB-OH	0,14	0,707	W-OH	0,15	0,703
	TB-OW	0,78	0,378	W-OW	0,60	0,438
	TB-OP	0,00	0,955	W-OP	0,00	0,965
	TB-OA	0,02	0,901	W-OA	0,02	0,878
Erkek	TB-OL	0,20	0,656	W-OL	0,15	0,700
	TB-OH	0,36	0,548	W-OH	0,20	0,656
	TB-OW	0,08	0,781	W-OW	0,04	0,843
	TB-OP	0,01	0,940	W-OP	0,01	0,916
	TB-OA	0,01	0,918	W-OA	0,01	0,940
Tüm Bireyler	TB-OL	0,27	0,601	W-OL	0,21	0,647
	TB-OH	0,12	0,732	W-OH	0,07	0,785
	TB-OW	0,52	0,473	W-OW	0,36	0,546
	TB-OP	0,02	0,875	W-OP	0,03	0,867
	TB-OA	0,00	0,949	W-OA	0,01	0,930

Tablo 3. *P. turani*'nin dişi ve erkekleri için elde edilen üssel regresyonların katsayıları arasında karşılaştırma.

Table 3. Comparison between the coefficients of nonlinear (power) regressions obtained for females and males of *P. turani*.

Bölge	İlişki	ANCOVA Testi		İlişki	ANCOVA Testi	
		F	P		F	P
Sol	TB-OL	0,71	0,319	W-OL	0,39	0,532
	TB-OH	0,89	0,346	W-OH	0,56	0,457
	TB-OW	1,19	0,277	W-OW	0,71	0,401
	TB-OP	0,96	0,328	W-OP	0,52	0,472
	TB-OA	1,25	0,265	W-OA	0,77	0,380
Sağ	TB-OL	1,73	0,190	W-OL	0,97	0,325
	TB-OH	0,37	0,544	W-OH	0,32	0,571
	TB-OW	2,34	0,128	W-OW	1,60	0,208
	TB-OP	0,82	0,366	W-OP	0,37	0,542
	TB-OA	0,80	0,372	W-OA	0,43	0,513

Otolit değişkenleri ile TB ve W arasındaki tüm ilişkiler oldukça önemli bulunmuştur ($P < 0,001$). Regresyon modelleri çoğunlukla varyansın %90'ından daha fazlasını açıklamıştır (Tablo 4). İlişkilerin R^2 değerleri 0,85-0,92 arasında değişim göstermiştir. OW, OP ve OA, balık boyu ve ağırlığı ile daha kuvvetli ilişkiler sağlamıştır. Ölçülen ve hesaplanan TB değerleri arasındaki fark sadece OA için önemli bulunmuştur (Mann-Whitney U testi, $P < 0,05$). Buna karşılık ölçülen ve hesaplanan W değerleri arasındaki fark önemsiz çıkmıştır (Mann-Whitney U testi, $P > 0,05$). Ortalama yüzde tahmin hatası değerleri 4,69-20,16 arasında değişmiştir. Farklı otolit ölçümlerinin TB ile olan ilişki denklemlerinin ortalama %TH değerleri, W ile olan ilişki denklemlerinin ortalama %TH değerlerinden daha küçüktür. OA regresyonunun ortalama %TH değeri diğer otolit değişkenlerinin ortalama %TH değerinden farklılık göstermiştir (ANOVA, $P < 0,05$). Buna karşılık, W denklemlerinin ortalama %TH değerleri arasında istatistiksel farklılık tespit edilmemiştir (ANOVA, $P > 0,05$).

Tablo 4. *P. turani* için otolit ölçümleri ile balık total boyu/ağırlığı arasındaki üssel ilişkilerin regresyon parametreleri ve her bir otolit değişkeni için hesaplanan ortalama yüzde tahmin hatası değeri.**Table 4.** Regression parameters of the power relationships between otolith measurements and fish length/weight, and the mean percent prediction error of each otolith variable for *P. turani*.

İlişki	N	a	b	SH (b)	R ²	P	Ölçülen TB/W	Hesaplanan TB/W	% TH (±SS)
							(Ort±SS)	(Ort±SS)	
TB-OL	232	0,042	0,859	0,021	0,88	<0,001	72,02±15,18	72,53±16,45	5,65±6,66
TB-OH	232	0,060	0,708	0,016	0,90	<0,001	72,02±15,18	72,64±16,35	5,69±4,69
TB-OW	232	0,0000643	2,393	0,047	0,92	<0,001	72,02±15,18	72,14±15,71	5,13±3,98
TB-OP	232	0,172	0,798	0,016	0,92	<0,001	72,02±15,18	72,40±16,05	4,69±4,83
TB-OA	232	0,002	1,530	0,031	0,91	<0,001	72,02±15,18	79,86±17,76	10,39±4,46
W-OL	232	1,093	0,292	0,008	0,85	<0,001	4,70±2,68	4,85±3,11	20,16±29,83
W-OH	232	0,880	0,242	0,006	0,89	<0,001	4,70±2,68	4,83±3,15	18,05±17,35
W-OW	232	0,557	0,814	0,018	0,90	<0,001	4,70±2,68	4,79±2,86	17,60±14,37
W-OP	232	3,542	0,272	0,06	0,90	<0,001	4,70±2,68	4,83±3,04	16,26±17,33

Tüm örneklerin sağ otolitlerine ait beş farklı ölçümün birbirleriyle olan ilişkilerinin regresyon parametreleri Tablo 5'te verilmiştir. Otolit değişkenleri arasındaki ilişkiler oldukça önemli çıkmıştır (P<0,001). İlişkilerin R² değerleri 0,86-0,98 arasında değişmiştir. Regresyon modelleri büyük bir oranda varyansın %90'ından daha fazlasını açıklamıştır. OP-OA ve OL-OA ilişkileri diğerlerinden daha kuvvetli bulunmuştur.

Tablo 5. *P. turani*'nin farklı otolit ölçümleri arasındaki üssel ilişkiler.**Table 5.** The nonlinear (power) relationships between different otolith measurements of *P. turani*.

İlişki	N	a	b	SH (b)	R ²	P
OL-OH	232	0,847	0,756	0,020	0,86	<0,001
OL-OW	232	0,474	2,616	0,049	0,93	<0,001
OL-OP	232	3,333	0,889	0,012	0,95	<0,001
OL-OA	232	0,677	1,720	0,020	0,97	<0,001
OH-OW	232	0,890	3,181	0,067	0,90	<0,001
OH-OP	232	4,128	1,082	0,017	0,94	<0,001
OH-OA	232	1,030	2,068	0,037	0,93	<0,001
OP-OW	232	0,014	2,920	0,045	0,95	<0,001
OA-OW	232	0,855	1,524	0,022	0,95	<0,001
OP-OA	232	0,069	1,907	0,017	0,98	<0,001

Tablo 6. *P. turani*'nin dişi, erkek ve tüm bireylerinde otolit şekil indeksi değerleri.**Table 6.** Otolith shape index values for females, males and all specimens of *P. turani*.

Eşey	Şekil İndeksi	Yön	Ort	SH	SS	Min	Mak	N
Dişi	Şekil Faktörü	Sol	0,737	0,002	0,029	0,657	0,803	140
		Sağ	0,751	0,002	0,031	0,622	0,822	
	Boy-Yükseklik Oranı	Sol	1,340	0,008	0,105	1,003	1,689	140
		Sağ	1,339	0,008	0,096	0,986	1,540	
	Dairesellik	Sol	17,048	0,057	0,677	15,632	19,109	140
		Sağ	16,749	0,062	0,743	15,271	20,181	
	Yuvarlaklık	Sol	0,751	0,005	0,066	0,624	0,999	140
		Sağ	0,754	0,005	0,061	0,647	1,000	
	Dikdörtgensellik	Sol	0,785	0,002	0,033	0,698	1,005	140
		Sağ	0,789	0,002	0,027	0,701	0,845	
Ovallık	Sol	0,143	0,003	0,039	0,001	0,256	140	
	Sağ	0,143	0,003	0,036	-0,006	0,212		
Erkek	Şekil Faktörü	Sol	0,725	0,003	0,034	0,659	0,830	74
		Sağ	0,731	0,004	0,039	0,645	0,846	
	Boy-Yükseklik Oranı	Sol	1,325	0,014	0,126	0,982	1,536	74
		Sağ	1,335	0,012	0,108	1,067	1,615	
	Dairesellik	Sol	17,345	0,094	0,811	15,116	19,044	74
		Sağ	17,220	0,108	0,927	14,842	19,456	
	Yuvarlaklık	Sol	0,752	0,010	0,086	0,613	1,091	74
		Sağ	0,747	0,007	0,065	0,621	0,943	
	Dikdörtgensellik	Sol	0,775	0,003	0,029	0,718	0,841	74
		Sağ	0,778	0,003	0,033	0,677	0,834	
Ovallık	Sol	0,137	0,005	0,049	-0,008	0,211	74	
	Sağ	0,141	0,004	0,040	0,032	0,235		
Tüm Bireyler	Şekil Faktörü	Sol	0,735	0,002	0,031	0,657	0,830	232
		Sağ	0,745	0,002	0,035	0,622	0,846	
	Boy-Yükseklik Oranı	Sol	1,329	0,007	0,113	0,982	1,689	232
		Sağ	1,333	0,006	0,100	0,986	1,615	
	Dairesellik	Sol	17,119	0,048	0,732	15,116	19,109	232
		Sağ	16,885	0,054	0,827	14,842	20,181	
	Yuvarlaklık	Sol	0,756	0,004	0,074	0,613	1,091	232
		Sağ	0,755	0,004	0,062	0,621	1,000	
	Dikdörtgensellik	Sol	0,783	0,002	0,032	0,698	1,005	232
		Sağ	0,786	0,001	0,029	0,677	0,845	
	Ovallık	Sol	0,139	0,002	0,043	-0,008	0,256	232
		Sağ	0,141	0,002	0,037	-0,006	0,235	

P. turani örnekleminde otolit şekil indeksi değerleri Tablo 6’da verilmiştir. Şekil faktörü, dairesellik ve dikdörtgensellik indeksleri sağ ve sol bölge otolitleri arasında farklılık göstermiştir. Buna karşılık boy-yükseklik oranı, yuvarlaklık, dikdörtgensellik ve ovallik indeksleri eşeyler arasında istatistiksel farklılık sergilememiştir. Diğer taraftan dişi ve erkeklerin sağ otolitleri için hesaplanan şekil faktörü ve dairesellik indeksleri arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7. Otolit şekil indeksi değerlerinin sol-sağ bölge ve dişi-erkek bireyler arasında istatistiksel olarak karşılaştırılması.

Table 7. Statistical comparisons between left-right sides and female-male individuals of otolith shape index values.

	Değişken	Test	P
Sol-Sağ	Şekil Faktörü	Wilcoxon testi	0,000
	Boy-Yükseklik Oranı	Wilcoxon testi	0,280
	Dairesellik	Wilcoxon testi	0,000
	Yuvarlaklık	Wilcoxon testi	0,951
	Dikdörtgensellik	Wilcoxon testi	0,018
	Ovallik	Wilcoxon testi	0,219
Dişi-Erkek	Şekil Faktörü	İki örneklem t-testi (sol)	0,157
		İki örneklem t-testi (sağ)	0,018
	Boy-Yükseklik Oranı	İki örneklem t-testi (sağ)	0,749
		İki örneklem t-testi (sol)	0,133
	Dairesellik	Mann-Whitney U testi (sağ)	0,005
		İki örneklem t-testi (sağ)	0,437
	Yuvarlaklık	Mann-Whitney U testi (sol)	0,129
	Dikdörtgensellik	Mann-Whitney U testi (sağ)	0,330
Ovallik	Mann-Whitney U testi (sağ)	0,734	

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bildiğimiz kadarıyla, bu çalışma Aksu Kayabalığı’nın sagittal otolit morfometrisini üzerine ilk araştırmadır. Bulgularımız, otolit ölçümleri ile balık boyu ve ağırlığı arasındaki ilişkilerin sol-sağ bölge ve/veya dişi-erkek bireyler arasında farklılık göstermediğini ortaya koymuştur. Bu sonuç, bazı yazarların gözlemleriyle uyumludur (Jawad & Al-Mamry, 2012; Yazıcı vd., 2020; Yılmaz vd., 2014; Yılmaz vd., 2019; Zengin vd., 2017).

Otolit boyutları ile balık ölçümleri arasındaki ilişkilerin tanımlanmasında genellikle doğrusal fonksiyonlar tercih edilmektedir. Bununla birlikte Leonart vd., (2000), bu tip ilişkiler için doğrusal modelin uygun olmadığını bildirmiştir. Benzer şekilde Campana, (2004) da söz konusu ilişkilerin sürekli olarak doğrusal olamayacağına dikkat çekmiştir. Bu çalışmada adı geçen ilişkiler üssel fonksiyonla tanımlanmıştır. Literatürler incelendiğinde birçok çalışmada üssel modelin kullanıldığı göze çarpmaktadır (Bani vd., 2013; Gimenez vd., 2016; Saygın vd., 2020; Yılmaz vd., 2014; Yılmaz vd., 2015; Yılmaz vd., 2019).

Morfometrik ilişkilerin analiz edilmesi neticesinde, balık somatik büyümesinin geri hesaplanmasında otolit ağırlığı ve çevresinin diğer değişkenlere oranla daha doğru sonuçlar verdiği tespit edilmiştir. Otolitler, piskivor canlıların beslenme alışkanlıkları ile ilgili çalışmalarda sıklıkla tespit edilmektedir. Buna karşın predatör hayvanın midesinde bulunan balığın eşeyi ya da boyutları çoğu kez

bilinmemektedir. Bu nedenle eşey farkının olmadığı durumlar için üretilen regresyonlara ihtiyaç duyulmaktadır (Echeverria, 1987). Bu çalışma söz konusu durumlar için gerekli olan ilişki denklemlerini sunmaktadır. Bununla birlikte, adı geçen ilişkiler bu çalışmada verilen boy sınırları dâhilinde kullanılmalıdır.

Şekil indekslerini incelemek karmaşık olsa da genel morfolojiye dayanan tanımlamaları doğruladığı bildirilmiştir (Russ, 1990, Tuset vd., 2003). *P. turani*’nin otolit şekil indekslerinin hesaplandığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte *P. bathybius* ve *P. gorlap* türlerinde sağ sagittal otolit ölçümleri kullanılarak altı şekil indeksi değeri hesaplanmıştır (Bani vd., 2013). Şekil indeksleri açısından *P. turani* ve diğer iki *Ponticola* türü karşılaştırıldığında; en yüksek şekil faktörü ve dikdörtgensellik değeri ile en düşük dairesellik değerinin *P. turani*’de olduğu görülmektedir (Tablo 8). Mevcut durum Aksu Kayabalığı otolitlerinin geometrik olarak daha düzenli ve daha dikdörtgen şekilli olduğuna işaret etmektedir.

Tablo 8. *Ponticola*’nın üç türünde otolit şekil indeksi değerleri.
Table 8. Otolith shape index values for three species of *Ponticola*.

Şekil indeksi	Bani vd., 2013		Bu çalışma
	<i>P. bathybius</i>	<i>P. gorlap</i>	<i>P. turani</i>
Şekil Faktörü	0,64	0,61	0,75
Boy-Yükseklik Oranı	1,21	1,43	1,33
Dairesellik	19,48	20,73	16,89
Yuvarlaklık	0,80	0,63	0,76
Dikdörtgensellik	0,76	0,68	0,79
Ovallik	0,09	0,16	0,14

TEŞEKKÜR

Yazarlar, örnekleme ve laboratuvar süreçlerindeki yardımlarından dolayı Dr. Melek Özpiçak, Dr. Semra Saygın, Enes Hançer ve Aykut Aydın’a ve türün tanımlanması noktasındaki önerileri için Dr. Cüneyt Kaya’ya teşekkür ederler.

KAYNAKLAR

- Arslan, Z. & Yazıcı, R. (2020).** Evaluation of 6 different calcified structure in age determination of Common Carp (*Cyprinus carpio*, L., 1758). *The Black Sea Journal of Sciences*, **10**(2), 466-478. DOI: [10.31466/kfbd.815021](https://doi.org/10.31466/kfbd.815021)
- Assis, C.A. (2005).** The utricular otoliths, lapilli, of teleosts: their morphology and relevance for species identification and systematics studies. *Scientia Marina*, **69**(2), 259-273. DOI: [10.3989/scimar.2005.69n2259](https://doi.org/10.3989/scimar.2005.69n2259)
- Bani, A., Poursaeid, S. & Tuset, V.M. (2013).** Comparative morphology of the sagittal otolith in three species of South Caspian gobies. *Journal of Fish Biology*, **82**, 1321-1332. DOI: [10.1111/jfb.12073](https://doi.org/10.1111/jfb.12073)

- Baremore, I.E. & Bethea, D.M. (2010).** *A Guide to Otoliths From Fishes of the Gulf of Mexico* (Report No.599). NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-599, Panama.
- Battaglia, P., Malara, D., Ammendolia, G., Romeo, T. & Andaloro, F. (2015).** Relationships between otolith size and fish length in some mesopelagic teleosts (Myctophidae, Paralepididae, Phosichthyidae and Stomiidae). *Journal of Fish Biology*, **87**, 774-782. DOI: [10.1111/jfb.12744](https://doi.org/10.1111/jfb.12744)
- Battaglia, P., Malara, D., Romeo, T. & Andaloro, F. (2010).** Relationships between otolith size and fish size in some mesopelagic and bathypelagic species from the Mediterranean Sea (Strait of Messina, Italy). *Scientia Marina*, **74**(3), 605-612. DOI: [10.3989/scimar.2010.74n3605](https://doi.org/10.3989/scimar.2010.74n3605)
- Bostancı, D., Polat, N. & Yılmaz, S. (2009).** Age determination and annulus formation of crucian carp (*Carassius gibelio*) inhabiting Egirdir Lake and Bafra Fish Lake, Turkey. *Journal of Freshwater Ecology*, **24**(2), 331-333. DOI: [10.1080/02705060.2009.9664300](https://doi.org/10.1080/02705060.2009.9664300)
- Bostancı, D., Polat, N., Kurucu, G., Yedier, S., Konaş, S. & Darçin, M. (2015).** Using otolith shape and morphometry to identify four *Alburnus* species (*A. chalcoides*, *A. escherichii*, *A. mossulensis* and *A. tarichi*) in Turkish inland waters. *Journal of Applied Ichthyology*, **31**(6), 1013-1022. DOI: [10.1111/jai.12860](https://doi.org/10.1111/jai.12860)
- Bremm, C. & Schulz, U. (2014).** Otolith atlas of fish of the Sinos River. *Brazilian Journal of Biology*, **74**(2), 274-282. DOI: [10.1590/1519-6984.11612](https://doi.org/10.1590/1519-6984.11612)
- Campana, S.E. & Thorrold, S.R. (2001).** Otoliths, increments, and elements: keys to a comprehensive understanding of fish populations?. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **58**, 30-38. DOI: [10.1139/f00-177](https://doi.org/10.1139/f00-177)
- Campana, S.E. (1999).** Chemistry and composition of fish otolith: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*, **188**, 263-297.
- Campana, S.E. (2004).** *Photographic atlas of fish otoliths of the Northwest Atlantic Ocean*. NRC Research Press, Canada, 284p.
- Canas, L., Stransky, C., Schlickeisen, J., Sampedro, M.P. & Farina, A.C. (2012).** Use of the otolith shape analysis in stock identification of anglerfish (*Lophius piscatorius*) in the Northeast Atlantic. *ICES Journal of Marine Science*, **69**(2), 250-256. DOI: [10.1093/icesjms/fss006](https://doi.org/10.1093/icesjms/fss006)
- Çiçek, E., Sungur, S. & Fricke, R. (2020).** Freshwater lampreys and fishes of Turkey; a revised and updated annotated checklist. *Zootaxa*, **4809**(2), 241-270.
- Echeverria, T.W. (1987).** Relationship of otolith length to total length in rockfishes from Northern and Central California. *Fishery Bulletin*, **85**(2), 383-387.
- Elliott, N.G., Haskard, K. & Koslow, J.A. (1995).** Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia. *Journal of Fish Biology*, **46**(2), 202-220.
- Freyhof, J. (2011).** Diversity and distribution of freshwater gobies from the Mediterranean, the Black and Caspian Seas. In: Patzner, R., Van Tassell, J.L., Kovacic, M., & Kapoor, B.G. (Eds), *The Biology of Gobies.*, 279- 288p, Science Publishers, Enfield, New Hampshire.
- Freyhof, J. (2014).** *Ponticola turani*. The IUCN Red List of Threatened Species 2014. Erişim tarihi: 12 Ocak 2021, <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20141.RLT.S.T19513755A19849709.en>.
- Fricke, R., Eschmeyer, W.N. & Van der Laan, R. (2020).** Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. Erişim tarihi: 15 Ocak 2021, <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>.
- Gimenez, J., Manjabacas, A., Tuset, V.M. & Lombarte, A. (2016).** Relationships between otolith and fish size from Mediterranean and North-Eastern Atlantic species to be used in predator-prey studies. *Journal of Fish Biology*, **89**, 2195-2202. DOI: [10.1111/jfb.13115](https://doi.org/10.1111/jfb.13115)
- Jawad, L.A. & Al-Mamry, J.M. (2012).** Relationship between fish length and otolith dimensions in the carangid fish (*Carangoides coeruleopinnatus* Rüppell, 1830) collected from the Sea of Oman. *Journal of Fisheries Sciences. com*, **6**(3), 203-208.
- Kovačić, M. & Engin, S. (2008).** Two new species of *Neogobius* (Gobiidae) from Northeastern Turkey. *Cybium*, **32**(1), 73-80.
- Lleonart, J., Salat, J. & Torres, G.J. (2000).** Removing allometric effects of body size in morphological analysis. *Journal of Theoretical Biology*, **205**, 85-93.
- Neilson, M.E. & Stepien, C.A. (2009).** Escape from the Ponto-Caspian: evolution and biogeography of an endemic goby species flock (Benthophilinae: Gobiidae: Teleostei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **52**(1), 84-102.
- Özpiçak, M., Saygın, S., Aydın, A., Hançer, E., Yılmaz, S. & Polat, N. (2018).** Otolith shape analyses of *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758) (Actinopterygii: Cyprinidae) inhabiting four inland water bodies of the middle Black Sea region, Turkey. *Iranian Journal of Ichthyology*, **5**(4), 293-302. DOI: [10.22034/iji.v5i4.311](https://doi.org/10.22034/iji.v5i4.311)
- Russ, J.C. (1990).** Computer-assisted microscopy: The measurement and analysis of images. Plenum Press, New York, 470p.
- Sadighzadeh, Z., Tuset, V.M., Dadpour, M.R., Otero-Ferrer, J.L. & Lombarte, A. (2012).** Otolith atlas from the Persian Gulf and Oman Sea fishes. Lambert Academic Publishing, Germany, 72p.
- Santic, M., Staglić, N. & Pallaoro, A. (2013).** Age and growth of megrim *Lepidorhombus whiffiagonis* (Scomphthalamidae) from Eastern Central Adriatic Sea. *Cybium*, **37**(4), 255-261.
- Saygın, S., Özpiçak, M., Yılmaz, S. & Polat, N. (2020).** Otolith shape analysis and the relationships

- between otolith dimensions–total length of European Bitterling, *Rhodeus amarus* (Cyprinidae) sampled from Samsun Province, Turkey. *Journal of Ichthyology*, **60**(4), 570-577. DOI: [10.1134/S0032945220040190](https://doi.org/10.1134/S0032945220040190)
- Saygun, S., Turan, D., Saygun, F., Kabadayı, M., Yılmaz, H.F. & Şahin, T.A. (2017). Contributions to fish fauna of the Ilıca River Fatsa/Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, **10**(2), 141-154.
- Schulz-Mirbach, T. & Reichenbacher, B. (2006). Reconstruction of oligocene and neogene freshwater fish faunas-an actualistic study on cypriniform otoliths. *Acta Palaeontologica Polonica*, **51**(2), 283-304.
- Secor, D.H., Dean, J.M. & Laban, E.H. (1992). Otolith Removal and Preparation for Microstructural Examination, In: Stevenson, D.K & Campana, S.E. (ed), *Otolith microstructure examination and analysis 1st ed.*, 19-57p, Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences, Canada.
- Smith, R.J. (1980). Rethinking allometry. *Journal of Theoretical Biology*, **87**, 97-111.
- Tuset, V.M., Piretti, S., Lombarte, A. & Gonzalez, J.A. (2010). Using sagittal otoliths and eye diameter for ecological characterization of deep-sea fish: *Aphanopus carbo* and *A.intermedius* from NE Atlantic Waters. *Scientia Marina*, **74**(4), 807-814. DOI: [10.3989/scimar.2010.74n4807](https://doi.org/10.3989/scimar.2010.74n4807)
- Tuset, V.M., Lombarte, A., Gonzalez, J.A., Pertusa, J.F. & Lorente, M.J. (2003). Comparative morphology of the sagittal otolith in *Serranus* spp.. *Journal of Fish Biology*, **63**, 1491-1504. DOI: [10.1111/j.1095-8649.2003.00262.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2003.00262.x)
- Tuset, V.M., Lombarte, A. & Assis, A.A. (2008). Otolith atlas for the Western Mediterranean, North and Central Eastern Atlantic. *Scientia Marina*, **72**(Supplement 1), 7-198. DOI: [10.3989/scimar.2008.72s17](https://doi.org/10.3989/scimar.2008.72s17)
- Uğurlu, S. (2006). *Samsun ili tath su balık faunasının tespiti*. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Samsun, Türkiye, 398s.
- Uncu, L. (1995). *Terme Çayı ile Kocamandere Çayı havzalarında fiziki coğrafya araştırmaları ve doğal çevre sorunları*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü. Ankara, Türkiye, 136s.
- Vilizzi, L. & Copp, G.H. (2013). Bias, precision and validation of ageing O+ European barbel *Barbus barbus* (L.) from their otoliths. *Central European Journal of Biology*, **8**(7), 290-297. DOI: [10.2478/s11535-013-0175-4](https://doi.org/10.2478/s11535-013-0175-4)
- Volpedo, A. & Echeverria, D.D. (2003). Ecomorphological patterns of the sagitta in fish on the continental shelf off Argentina. *Fisheries Research*, **60**, 551-560. DOI: [10.1016/S0165-7836\(02\)00170-4](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(02)00170-4)
- Yazıcı, R., Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O. & Polat, N. (2014). The determination of the most reliable ageing method for the rudd (*Scardinius erythrophthalmus* L., 1758) population in Lake Ladik, Samsun, Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **31**(1), 27-33. DOI: [10.12714/egejfas.2014.31.01.05](https://doi.org/10.12714/egejfas.2014.31.01.05)
- Yazıcı, R., Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O. & Polat, N. (2015). Population structure and growth of rudd, *Scardinius erythrophthalmus* (L., 1758) from a eutrophic Lake in Northern Anatolia. *Croatian Journal of Fisheries*, **73**(3), 94-102. DOI: [10.14798/73.3.828](https://doi.org/10.14798/73.3.828)
- Yazıcı, R., Yazıcıoğlu, O. & Yılmaz, M. (2020). Otolith morphometry of wels catfish, *Silurus glanis* L., 1758. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, **6**(3), 215-222. DOI: [10.17216/limnofish.717925](https://doi.org/10.17216/limnofish.717925)
- Yılmaz, S. & Sakallı, M.M. (2020). Length-weight relationship and condition factor of Aksu goby, *Ponticola turani* (Kovačić & Engin, 2008) from Terme Stream (Turkey). *Acta Aquatica Turcica*, **16**(3), 353-359. DOI: [10.22392/actaquatr.686463](https://doi.org/10.22392/actaquatr.686463)
- Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O., Saygın (Ayaydın), S. & Polat, N. (2014). Relationships of the otolith dimensions with body length of European perch, *Perca fluviatilis* L., 1758 from Lake Ladik, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, **46**(5), 1231-1238.
- Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O., Yazıcı, R. & Polat, N. (2015). Relationships between fish length and otolith size for five cyprinid species from Lake Ladik, Samsun, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, **39**(3), 438-446. DOI: [10.3906/zoo-1403-58](https://doi.org/10.3906/zoo-1403-58)
- Yılmaz, S., Emiroğlu, Ö., Aksu, S., Başkurt, S. & Polat, N. (2019). Relationships between otolith dimensions and body growth of North African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) from the upper basin of the Sakarya River, Turkey. *Croatian Journal of Fisheries*, **77**(1), 57-62. <https://doi.org/10.2478/cjf-2019-0006>
- Zar, J.H. (1999). *Biostatistical analysis (Third Edition)*, Prentice Hall, New Jersey, USA, 663p.
- Zengin, M., Saygın, S. & Polat, N. (2017). Relationships between otolith size and total length of bluefish, *Pomatomus saltatrix* (Linnaeus, 1766) in Black Sea (Turkey). *North-West Journal of Zoology*, **13**(1), 169-171.



A New Trout Species from Southern Marmara Sea Drainages (Teleostei: Salmonidae)

Davut TURAN^{1*} Sadi AKSU²

¹Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, Rize, Turkey

²Vocational School of Health Services, Eskişehir Osmangazi University, Eskişehir, Turkey

Geliş/Received: 26.03.2021

Kabul/Accepted: 14.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Turan, D. & Aksu, S. (2021). A New Trout Species from Southern Marmara Sea Drainages (Teleostei: Salmonidae). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 232-239.

Atf yapmak için: Turan, D. & Aksu, S. (2021). Marmara Denizi'nin Güney Drenajından Yeni Bir Alabalık Türü (Teleostei: Salmonidae). *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 232-239.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9586-6223>

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2770-561X>

*Corresponding author's:

Davut TURAN

Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, Rize, Turkey

✉: dvturan@yahoo.com

Abstract: *Salmo duhani*, sp. n., a new species, is described from the southern Marmara Sea drainages, Turkey. It differs from the other *Salmo* species in the neighboring basins by having a shorter maxillary (8-10% SL); a shorter head (24-28% SL); 115-121 lateral line scales; 26-29 scale rows between lateral line and dorsal-fin origin; 20-23 scale rows between lateral line and anal-fin origin; 15-17 scales between lateral line and adipose-fin insertion; 17-19 gill rakers on the outer side of first gill arch; 10-13 large and oblong parr marks along the lateral line in all individuals.

Keywords: Anatolia, biodiversity, freshwater fish, *Salmo*, taxonomy.

Marmara Denizi'nin Güney Drenajından Yeni Bir Alabalık Türü (Teleostei: Salmonidae)

Öz: Yeni bir tür olan *Salmo duhani* Türkiye'nin güney Marmara Denizi drenajından tanımlanmaktadır. Türün yakın havzalarda dağılım gösteren diğer *Salmo* türlerinden farkı: maksiller kısadır (% 8-10 SB); baş boyu kısadır (% 24-28 SB); ligne lateral pul sayısı 115-121; ligne lateral ile dorsal yüzgecin başlangıcı arasındaki pul sıra sayısı 26-29; ligne lateral ile anal yüzgecin başlangıcı arasındaki pul sıra sayısı 20-23; ligne lateral ile adipoz yüzgecin başlangıcı arasındaki pul sıra sayısı 15-17; birinci solungaç yayının dış tarafında bulunan solungaç dikenini sayısı 17-19; bütün bireylerde yanal çizgi boyunca büyük ve dikdörtgen şeklinde 10-13 par bulunmasıdır.

*Sorumlu yazar:

Davut TURAN

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Rize, Türkiye

✉: dvturan@yahoo.com

Anahtar kelimeler: Anadolu, biyolojik çeşitlilik, iç su balığı, *Salmo*, taksonomi.

INTRODUCTION

The genus *Salmo* is widespread in cold streams and lakes of Turkey. In the last decade, Turan *et al.*, (2010, 2011, 2012, 2014a, b, 2017, 2020) taxonomically evaluated native trouts in Turkey and recognized into fourteen species. Additionally, two established populations of the introduced *Salmo trutta* have been recently recorded in the upper Tigris River and drainages of Lake Van (Kaya, 2020).

The *Salmo* populations of northwestern Turkey had been previously reported as *Salmo* cf. *labrax* (Saç & Özuluğ, 2019) or *S. trutta macrostigma* (Geldiay & Balık, 1999; Sarı *et al.*, 2006, 2019), however, *S. labrax* is restricted to Northern Black Sea drainages and *S. macrostigma* is to Algeria (Kottelat, 1997; Delling & Doadrio, 2005; Kottelat & Freyhof, 2007). The other peri-Mediterranean populations referred to *S. macrostigma* belong to several species (*S. cettii* [Italy], *S. farioides*

[eastern Adriatic], *S. tigridis* [Tigris River], *S. okumusi*, *S. euphrataeus*, *S. fahrettini* and *S. munzuricus* [Euphrates River], *S. chilo*, *S. kottelati*, *S. labecula*, *S. opimus* and *S. platycephalus* [streams and rivers flowing to the Mediterranean Sea]) (Delling, 2003, 2011; Delling and Doadrio, 2005; Turan *et al.*, 2011, 2012, 2014a, b, 2017, 2020).

After the European trouts summarized with recognition of 29 species by Kottelat & Freyhof (2007), in the last decade, many species were also described in Turkey (Turan *et al.*, 2010, 2011, 2012, 2014a, b, 2017, 2020). However, there have always been controversial aspects about the taxonomy of the genus, and a group of geneticists has continued to negate this diversity within the genus *Salmo* (e.g. Tougard *et al.*, 2018; Kalaycı *et al.*, 2018).

Kalaycı *et al.*, (2018) claimed that all *Salmo* species in Caspian and the Black Sea drainages in Turkey belong to *Salmo trutta*, based on their production of hybrid fertile individuals in the laboratory. On the other hand, Ninua *et al.*, (2018) claimed that there is not a species level differentiation between a migratory population of Georgia and northeastern Turkey, and all belong to *Salmo labrax*. However, they did not examine or compare any specimens from the type locality of *S. labrax*.

Here, we examined some populations from the southern Marmara Sea basin, which have been formerly misidentified as *S. macrostigma*.

MATERIAL AND METHOD

Specimens are deposited in FFR, Zoology Museum of the Faculty of Fisheries, Recep Tayyip Erdogan University, Rize. Measurements and counts were all obtained on wild-caught specimens, well preserved, in a straight position. Specimens not fixed straight or damaged were excluded. All samples include both sexes, juveniles, and mature specimens. Most *Salmo* populations are small, geographically restricted and under great threat because of overfishing and habitat destruction, and it is not advisable to collect and preserve large series of individuals. Colour pattern and variation in shape were observed in the field on additional individuals, which were not preserved.

Measurements were taken with digital callipers (0.1 mm accuracy). Counts and measurements follow Turan *et al.* (2014a). Lateral line scale count includes scales on the base of the caudal fin. Sex was determined by examination of the gonads of at least 10 specimens. In the description of colour pattern, bands are the broad blackish vertical marks on the body, typically positioned behind the gill opening, below the dorsal-fin, above the anal-fin, and on the caudal peduncle. In some species, these bands are known in well-preserved specimens only, or in stressed individuals only, and in other species, they are visible in

situ in undisturbed individuals. A spot is called ocellated when surrounded by a white or very palering.

Morphometric and meristic data for *S. abanticus*, *S. labrax*, *S. rizeensis*, *S. coruhensis*, *S. caspius*, *S. palegonicus*, *S. tigridis*, *S. okumusi*, *S. euphrataeus*, *S. platycephalus*, *S. labecula*, *S. opimus*, *S. chilo*, *S. okumusi*, *S. kottelati* and *S. munzuricus* are from Turan *et al.* (2010, 2011, 2012, 2014a-b, 2017).

RESULTS AND DISCUSSION

Ninua *et al.*, (2018) considered *Salmo coruhensis* and *S. labrax* as conspecific, and used the priority name *S. labrax*. However, their study material lacked specimens of *S. labrax* from its type locality, and some of their *S. labrax* locations overlapped with *S. coruhensis* distribution range. Therefore, we concluded that Ninua *et al.*, (2018) might have misidentified *S. coruhensis* as *S. labrax*, and we treated *S. coruhensis* as a valid name here.

Kalaycı *et al.*, (2018) claimed that all *Salmo* species in Caspian and Black Sea drainages in Turkey belong to *Salmo trutta*, based on their reproduction of hybrid fertile individuals among *Salmo trutta abanticus*, *S.t. labrax*, *S.t. caspius* and *S.t. fario* in the laboratory. Firstly, it was reported that the subspecies category, which constitutes the simplified form of the systematic classification, couldn't actually be accepted (Kottelat, 1997). *Salmo fario* was described from rivers of Sweden and Switzerland; however, it is not a valid species anymore (e.g. Berg, 1948; Kottelat, 1997). *Salmo labrax* was described from Crimea (Ukraine), and distributed in northern and western tributaries of the Black Sea basin, which has not found in Turkey (Turan *et al.*, 2010; Latiu *et al.*, 2020). *Salmo caspius* was described from the Kura River near Bozhii in Azerbaijan as a migratory species, and may the Turkish resident population does not belong to this species. Moreover, the fish samples that fertile hybrids reproduced by Kalaycı *et al.*, (2018) were not collected from type localities of the species, except for *S. abanticus*. Further, they did not take into account *S. coruhensis* and *S. rizeensis*, which were described a decade ago in the southeastern drainages of the Black Sea in Turkey. They collected *S.t. labrax* from Tektaş Stream and *S.t. fario* from Fırtına River. Tektaş Stream is inhabited by *Salmo coruhensis*, while the Fırtına River is inhabited by both sympatric *S. coruhensis* and *S. rizeensis*. It is likely that, these authors collected *S. coruhensis* instead of *S. rizeensis* in the Fırtına River. Therefore, it cannot be excluded that they only reproduced pure *S. coruhensis* individuals rather than hybrid individuals. Even if the correct species were used in the study, the study was limited to F1 and F2 offspring, and the species were produced under unnatural conditions. Thus, the results of the study are not reliable.

Apart from all these, there is another very important point: Kalaycı et al., (2018) claimed that all these mentioned species under the Danubian lineage are *Salmo trutta*, based on their results. However, *Salmo trutta* was described from Rhine River Germany, and it belongs to Atlantic lineage. Even, the Danube River population is formed by *Salmo labrax*.

Recently, Latiu et al., (2020) have recorded *Salmo labrax* in Romanian waters. Their specimens (Latiu et al., 2020, Figure 2; 14) resemble morphologically very similar to the figure presented from Crimea, Ukraine (around the type locality of the species, Kottelat and Freyhof 2007; 428). The differences between *Salmo coruhensis* and *S. labrax* were clearly demonstrated in the original description, and morphologic appearances of both species were obviously very different (Turan et al., 2010; Figures 5b and 7; 343, 346, respectively).

The trout population in stream Ayazma (an upper drainage of stream Küçükmerdes, North Aegean basin) shares some morphological diagnostic features with *Salmo pelagonicus* and has recently recorded as *S. pelagonicus* by Turan and Bayçelebi, (2020) (Figure 1).

***Salmo duhani*, new species** (Figure 1): *Salmo trutta macrostigma* (non Duméril, 1858): Sarı et al., 2006: 37 (Çanakkale province; Yenice county; Stream Çelebi, a drainage of Gönen River).



Figure 1. *Salmo duhani*, from top: FFR 3183, holotype, 228 mm SL, male; FFR 03184, paratypes, 160 mm SL, female, and 92 mm SL, juvenile; Turkey: stream Zeytinli.

Holotype: FFR 3183, 228 mm SL, male; Turkey: Çanakkale Prov.: stream Zeytinli about 9 km east of Kazdağı National Park, 39.750N 27.017E, 28.11.2006.

Paratypes: FFR 3184, 15, 95-287 mm SL; same data as holotype. -FFR 3185, 14, 85-170 mm SL; Turkey: Çanakkale Prov.: stream Zeytinli, 39.749N 27.015E,

01.09.2014. —FFR 3186, 12, 108-160 mm SL; Turkey: Çanakkale Prov.: stream Zeytinli 39.759N 27.021E, 01.09.2014. —FFR 3194, 10, 62-122 mm SL; Turkey: Çanakkale Prov.: stream Kocaçayı, 12 km west of Kalkım, 39.804N 27.071E, 01.09.2014. —FFR 3195, 15, 93-275 mm SL; Turkey: Çanakkale Prov.: stream Kocaçayı at Yenice, 39.817N 27.099E, 28.11.2006.

Diagnosis: *Salmo duhani* differs from all other species of *Salmo* in adjacent waters by having a slenderer caudal peduncle in males (depth 8-10% SL, vs. 10-13, except *S. abanticus*), the size of adipose-fin not sexually dimorphic (the adipose-fin of male is approximately equal to that of female, vs. markedly larger in male) and numerous black spots on back and flank in adult females (vs. few black spots on back and flank in females). *Salmo duhani* is further distinguished from *S. abanticus* by having red spots on the body in specimens larger than 200 mm SL (vs. absent), circular black spots on the flank (vs. polygonal), circular rings around the black spots (vs. polygonal) and black spots approximately equal size or smaller than pupil (vs. markedly larger than pupil). *Salmo duhani* is further distinguished from *S. pelagonicus* from Stream Ayazma (a tributary of Karamenderes River, Aegean basin) by having grayish background color in life (vs. brownish), having fewer lateral line scales (115-121, vs. 109-115), a shorter maxillary in males (8-10% SL, vs. 10-11) and a slenderer body (body depth at dorsal-fin origin 20-23% SL, vs. 23-27). *Salmo duhani* is further distinguished from *S. labrax* by having a slenderer body in males (depth at dorsal-fin origin 20-23% SL, mean 21.3, vs. 23-27, mean 25) and a smaller adipose-fin in males (depth 4-6% SL, mean 5.1, vs. 7-9, mean 7.6). It further differs from *S. coruhensis* by the number of the red spots which does not increase with increasing size in males (vs. increasing with increasing size). *Salmo duhani* further differs from *S. rizeensis* by having grayish background color in life (vs. brownish or greenish). It is also distinguished from *S. rizeensis* by maxilla slightly reaching beyond eye in males and females (vs. reaching markedly beyond eye in males larger than approximately 200 mm SL) and the snout pointed (vs. slightly rounded).

Description: General appearance of *Salmo duhani* is shown in Figure 1, morphometric and meristic data are presented in Tables 1 and 2, respectively. Body slender, dorsal profile behind head slightly convex, ventral profile less arched than dorsal profile. Head short, its length not sexually dimorphic but its shape sexually dimorphic (the upper profile slightly convex in interorbital area and slightly concave at the level of nostrils in adult males, convex in the interorbital area and slightly convex on snout in females, markedly convex in juveniles). Mouth small, terminal or slightly subterminal in adult males, subterminal in females, and conspicuously subterminal in juveniles

(Figure 1). Upper jaw equal or slightly longer than lower jaw in adult males, but clearly projecting lower jaw in females and juveniles. Tip of lower jaw slightly curved upward in males longer than over 220 mm SL, not curved in females. Maxilla short in both sexes, reaching slightly beyond eye in specimens larger than about 100 mm SL, and not sexually dimorphic; upper edge convex below the eye in males and females, straight or slightly convex in juvenile. Snout pointed in males, slightly pointed in females, and rounded in juveniles. Adipose-fin small, not reaching the base of caudal-fin, its upper edge straight anteriorly and slightly convex posteriorly in males and females, and convex in juveniles.

Lateral line with 115-121 scales; 20-23 scale rows between lateral line and anal-fin origin; 26-29 scale rows

between lateral line and dorsal-fin origin; 15-17 scales between lateral line and the adipose-fin insertion (Tab. 2). Pectoral fin with one simple and 11-12 branched rays, outer margin straight or slightly convex. Pelvic-fin with one simple and 8-9 branched rays, outer margin slightly convex. Anal-fin with three simple and 7½-8½ branched rays, outer margin convex anteriorly, concave posteriorly.

Dorsal-fin with 3-4 simple and 9½-10½ branched rays, outer margin straight or slightly convex. Caudal-fin forked and lobes pointed or slightly rounded in specimens smaller than approximately 180 mm SL, slightly forked and lobes rounded in specimens larger than about 190 mm SL. Gill rakers 6-7 + 11-12 = 17-19 on the outer side of first gill-arch.

Table 1. Morphometry of *Salmo duhani* (holotype, FFR 3183; paratypes FFR 3184, n=15; paratypes FFR 3195, n=15) and *Salmo trutta* from Rhine River, Germany. The calculations include the holotype.

Sex	Holotype		Holotype & Paratypes				<i>Salmo trutta</i>			
	male	male n=15	female n=15		male n=7		female n=3			
Number of specimens	228	95-184	97-287		111-149		125-156			
Standard length (mm)	228	95-184	97-287		111-149		125-156			
In percentage of standard length	Range (mean)		SD	Range (mean)		SD	Range (mean)		SD	
Head length	27.5	24.4-27.7 (26.1)	1.1	24.9-27.7 (24.8)	0.7	28.4-31.2 (29.9)	1.1	27.3-29.6 (28.7)	1.0	
Predorsal length	46.4	43.3-48.5 (46.3)	0.9	43.3-48.5 (44.1)	1.1	48.1-52.0 (50.5)	1.6	45.9-51.9 (49.5)	2.6	
Prepelvic length	55.2	51.5-55.2 (53.6)	1.1	51.5-55.2 (50.9)	1.1	54.7-56.9 (55.7)	0.7	54.4-55.4 (55.0)	0.4	
Preal length	75.7	72.3-75.9 (74.8)	0.7	72.3-76.6 (71.3)	1.0	74.3-77.7 (76.6)	1.2	75.6-77.2 (76.5)	0.7	
Body depth at dorsal-fin origin	21.6	19.6-23.3 (21.3)	0.8	19.6-23.3 (20.2)	1.0	23.7-26.3 (25.4)	0.9	23.4-26.9 (25.4)	1.6	
Body depth at anal-fin origin	17.0	14.8-17.9 (16.2)	0.7	15.0-17.9 (15.4)	0.8	16.1-18.9 (17.5)	1.2	17.1-19.8 (18.0)	1.3	
Depth of caudal peduncle	9.5	7.9-9.9 (9.0)	0.5	8.3-9.9 (8.6)	0.4	9.7-11.1 (10.3)	0.5	9.5-11.0 (10.3)	0.6	
Length of caudal peduncle	16.7	16.3-18.2 (17.4)	0.5	16.3-18.2 (16.3)	0.7	15.6-16.8 (16.3)	0.4	15.7-17.0 (16.2)	0.6	
Distance between adipose- and caudal-fins	15.6	13.6-16.1 (14.9)	0.5	13.3-16.1 (14.0)	0.9	13.8-15.3 (14.7)	0.6	13.2-15.1 (14.5)	0.9	
Body width at anal-fin origin	10.0	7.6-10.2 (9.0)	0.7	7.6-10.2 (8.6)	0.6	5.5-7.4 (6.7)	0.7	5.7-8.2 (6.9)	1.0	
Length of dorsal-fin base	15.3	12.5-15.3 (13.7)	0.8	12.5-15.3 (13.0)	0.6	13.9-16.4 (14.7)	0.9	13.9-15.2 (14.5)	0.6	
Depth of dorsal-fin	17.5	15.2-18.6 (17.3)	1.2	16.4-19.1 (16.7)	0.7	17.1-21.7 (19.3)	1.8	18.1-19.5 (18.9)	0.6	
Length of pectoral-fin	17.9	16.7-20.9 (19.2)	1.2	17.4-20.9 (17.9)	0.8	18.4-20.2 (19.6)	0.7	17.8-20.1 (19.1)	1.0	
Length of adipose-fin base	3.4	1.8-4.0 (3.0)	0.6	2.7-4.2 (3.1)	0.4	3.4-4.7 (4.0)	0.5	3.5-4.5 (4.0)	0.5	
Depth of adipose-fin	6.2	4.2-6.2 (5.1)	0.5	4.2-6.3 (5.0)	0.6	6.3-7.3 (6.8)	0.4	5.5-7.6 (6.6)	0.9	
Length of pelvic-fin	13.7	12.5-15.0 (13.6)	0.6	12.5-15.0 (13.0)	0.5	13.3-15.3 (14.3)	0.8	13.7-14.9 (14.3)	0.6	
Depth of anal-fin	16.5	14.1-17.4 (15.7)	0.7	14.1-17.4 (14.8)	1.0	15.4-18.0 (16.8)	1.1	14.8-16.5 (16.0)	0.8	
Length of anal-fin base	11.0	7.3-11.3 (9.5)	1.1	7.3-11.3 (8.9)	1.2	9.7-10.8 (10.1)	0.4	9.7-10.3 (9.9)	0.2	
Length of upper caudal-fin lobe	14.4	14.4-20.0 (17.4)	1.4	16.1-20.0 (16.6)	1.2	19.2-21.1 (19.8)	0.7	18.3-19.9 (19.1)	0.9	
Length of median caudal-fin rays	12.3	11.1-13.2 (12.1)	0.5	11.1-13.2 (11.4)	0.6	14.1-16.1 (15.0)	0.8	13.8-14.8 (14.2)	0.5	
Length of lower caudal-fin lobe	16.0	14.5-20.0 (17.6)	1.5	16.0-20.0 (16.5)	0.9	19.4-20.6 (20.2)	0.6	19.2-20.4 (19.8)	0.6	
Snout length	8.5	6.2-8.5 (7.1)	0.5	6.2-8.5 (6.7)	0.5	7.0-7.9 (7.5)	0.3	6.7-7.3 (7.0)	0.3	
Distance between nasal openings	5.4	3.5-5.4 (4.6)	0.5	4.1-5.4 (4.4)	0.3	4.2-4.5 (4.3)	0.1	3.7-4.4 (4.1)	0.3	
Eye diameter	5.3	4.7-6.6 (5.9)	0.6	5.2-7.0 (5.7)	0.5	7.2-8.2 (7.5)	0.4	6.8-7.7 (7.1)	0.4	
Interorbital width	8.2	6.8-8.2 (7.5)	0.3	6.8-8.8 (7.2)	0.5	6.8-7.8 (7.4)	0.4	6.5-7.5 (7.1)	0.4	
Head depth through eye	13.6	11.1-13.6 (12.3)	0.7	11.7-13.7 (11.9)	0.6	12.3-13.6 (13.0)	0.5	11.6-13.2 (12.5)	0.7	
Head depth at nape	16.8	15.4-17.1 (16.1)	0.5	15.4-18.3 (15.5)	0.7	16.9-18.7 (18.0)	0.7	16.4-18.3 (17.5)	0.8	
Length of maxilla	9.6	7.9-9.8 (9.0)	0.3	7.9-10.0 (8.6)	0.7	10.7-11.8 (11.1)	0.5	10.1-11.2 (10.7)	0.5	
Maximum height of maxilla	2.5	2.1-2.7 (2.5)	0.4	2.3-3.4 (2.5)	0.4	2.5-3.1 (2.9)	0.2	2.8-3.3 (3.0)	0.2	
Width of mouth gape	10.6	7.0-10.6 (8.8)	1.1	7.3-10.6 (8.3)	1.0	8.3-9.2 (8.7)	0.3	7.9-9.0 (8.5)	0.5	
Length of mouth gape	14.3	11.0-14.3 (12.2)	0.9	11.0-14.3 (11.7)	0.6	14.2-16.2 (15.3)	0.8	13.2-15.5 (14.5)	0.9	

Sexual dimorphism: In males, the mouth is terminal or slightly subterminal in adult specimens, the upper profile head is slightly convex in the interorbital area and slightly concave at the level of nostrils. In females, the mouth is subterminal, the upper profile head is convex in the interorbital area.

Coloration: General body color greyish in life. General color of freshly preserved specimens: dark grey on the back and greyish on flank, belly yellowish. One to 4 black spots behind the eye and on the cheek (usually larger than pupil) and 1-6 black spots on top of the head (smaller than pupil). Few, ocellated, medium to large (equal to or

smaller than pupil) black spots scattered on the back and upper flank in males and females, smaller than about 160 mm SL, and back, the upper part of flank and middle part of the body in females larger than about 170 mm SL (Figure 1). The number of spots not increasing with sizes. Dorsal fin greyish, with 3-5 rows of black spots, and 3-4 rows of red spots posteriorly on the lower part. Caudal fin grey or dark grey. Anal, pectoral and pelvic fins yellowish. Adipose fin greyish, without any black and red spot along the distal margin. Ten to 13 parr marks distinct, vertically oblong, broad and large in all specimens examined.

Table 2. Frequency distribution of meristic features of five *Salmo* species from the Marmara Sea and adjacent basins.

	N	Lateral line scales																mean							
		110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125		126	127	128				
<i>S. duhani</i>	33						3	8	9	5	3	3	2												117.4
<i>S. abanticus</i>	21				2	2			5	2	4	4													117.1
<i>S. labrax</i>	41	2	2	6	3	7	8	7	3	3															114.3
<i>S. rizeensis</i>	31					5	7	5	5	5	2	2													116.4
<i>S. trutta</i>	10								1	2				1		2		1				1	1	1	122.5

	N	Above lateral line										Below lateral line							mean					
		26	27	28	29	30	31	32	33	34	mean	17	18	19	20	21	22	23						
<i>S. duhani</i>	33	5	12	9	7						27.5				7	8	11	7						21.6
<i>S. abanticus</i>	21	6	5	4	6						27.6		2	4	11	4								19.8
<i>S. labrax</i>	41		6	13	8	7	5	2			28.9			9	13	15	2	2						20.4
<i>S. rizeensis</i>	31	4	7	9	8	3					28.0		6	8	9	8								19.6
<i>S. trutta</i>	10				2	1	5	1			31.8	2	5	2	1									31.8

	N	Gill rakers							Scales between adipose-fin insertion and lateral line					mean
		14	15	16	17	18	19	20	mean	14	15	16	17	
<i>S. duhani</i>	33				5	13	15		18.4		7	21	5	15.9
<i>S. abanticus</i>	21					4	12	10	19.0		4	17		15.8
<i>S. labrax</i>	41				5	18	14	6	18.5		9	22	12	16.1
<i>S. rizeensis</i>	31			2	3	10	16		18.2	4	19	9	1	15.1
<i>S. trutta</i>	10	1	4	4	1				15.5		4	6		15.6

Distribution and habitat: *Salmo duhani* is known from the upper tributaries of streams Gönen in the southern Marmara Sea basin (Figure 2). It prefers clear and moderately swift flowing streams and rivers, with a substrate of pebbles and sand.

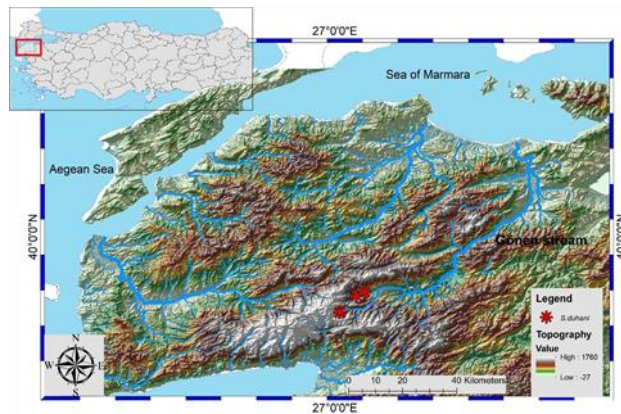


Figure 2. Distributions of *Salmo duhani*.

Etymology: *Salmo duhani* is named after Duhan Turan, son of the first author. A noun in genitive.

DISCUSSION

Trout biodiversity has long been an international debate particularly between morphologists and geneticists (Ferguson, 2004). Initially, phenotypic plasticity of species was not well-understood. Furthermore, several species concepts with no consensus decision has resulted in inflated taxonomic identifications (23 species according to IUCN, 2020; 30-35 species according to Kottelat & Freyhof, 2007; Sanz, 2018 and up to 60 species according to Behnke, 1986; Jonsson & Jonsson, 2011; Froese & Pauly, 2019). However, the most recent opinion paper by Guinand, Oral & Tougard, (2021), discussed thoroughly that phenotypic and genotypic diversity of brown trout is best explained in the concept of species complex and indicates multiple trout species.

Molecular studies demonstrated that the populations of previously recorded *S. trutta* form belongs to a number of distinct haplotype lineages, thus, several lineages were proposed by using mtDNA: North African, Atlantic, Adriatic, Mediterranean, Marbled, Danubian, Tigris, Dades, Duero (Bernatchez 2001; Bardakçı et al., 2006; Sušnik et al., 2005; Tougard et al., 2018). Later, many species have been described under these linages. However, there have always been researchers of the opposite view, and the diversity in the genus *Salmo* has been neglected (Tougaard et al., 2018; Kalaycı et al., 2018). Even, interestingly, Tougaard et al., (2018) listed all these linages under the *Salmo trutta*. Nevertheless, especially in studies conducted in the last decade, there are serious differences in diagnostically important features (e.g. head length, length and height of maxilla, scale counts, body color and pattern, length and height of adipose-fin) among several trout populations. Pure molecular studies conducted without considering these diagnostic differences have made some researchers mistakenly deny the diversity in trouts.

Besides the differences of the new species listed in the diagnosis section, it also differs from the other congeners listed below. *Salmo duhani* is distinguished from *S. pelagonicus* by having more par marks on the flank (10-13, vs. 9-10), a greyish body colour (vs. brownish), more red spots on the flank (vs. without or a few red spots on the flank), black spots scattered on the back and upper part of flank (vs. scattered on the flank, especially an anterior part of the body), a narrower ring around black and red spots (vs. very large ring), a smaller black spots (smaller than a pupil, vs. larger than pupil), the maxillary reaching to slightly beyond posterior margin of the eye (vs. markedly beyond posterior margin of the eye) and smaller adipose fin (small size, vs. medium size) (Figure 1).

Salmo duhani differs from all other *Salmo* species in Turkey by having a slenderer caudal peduncle in males (depth 8-10% SL, vs. 10-13), the size of adipose-fin not sexually dimorphic (the adipose-fin of males is approximately equal to that of females, vs. markedly

larger, except *S. chilo*) and numerous black spots on flank and back in adult females (vs. few black spots on flank and back in females, except *S. labecula*).

Salmo duhani also distinguished from *S. trutta* by having slightly fewer lateral line scales (115-121, vs. 117-128), fewer scale rows between lateral line and dorsal-fin origin (26-29, vs. 30-34), more scale rows between lateral line and anal-fin origin (20-23, vs. 17-20), more gill rakers first gill arch (17-19, vs. 14-17), a shorter head in males (25-28% SL, vs. 28-31), a shorter prepelvic length (52-55% SL, vs. 55-57), a slenderer caudal peduncle (8-10% SL, vs. 10-11), a smaller adipose fin (adipose-fin depth 4-6% SL, vs. 6-8), a smaller maxilla (length of maxilla 8-10% SL, vs. 10-12) and a smaller mouth gape in males (length of mouth gape 11-14% SL, vs. 14-16).

In this study, *Salmo coruhensis* is recorded for the first time from the streams Hisardere, drainage of the Lake İznik, and Sultaniye eastern drainage of İzmit bay, Marmara Sea basin. These records are the westernmost known distribution range of the species. There are record of resident *Salmo rizeensis* in Evrenye creek, Kastamonu (41.943N 33.893E) (Yoğurtçuoğlu et al., 2020), however, we could not find any *Salmo coruhensis* in the western Black Sea coasts of Turkey. The fact that there are many industrial factories that cause pollution in rivers may be the reason for this migratory species that cannot be found in the area.

Despite conservation status of some of the Salmonid species in Turkey were evaluated against IUCN criteria, there are still serious gaps about the ecology, threats, and exact number of independent populations of the species (IUCN, 2020). Kaya et al., (2019) reported several suggestions on the five species in the Turkish Mediterranean basin. They suggested that: *Salmo labecula* and *S. kottelati* should be evaluated as Critically Endangered because of their poorly known populations and invaded habitats by *Oncorhynchus mykiss*; *S. opimus* should be evaluated as Near Threatened because of its inhabits at least five different locations with intensive populations; both *S. chilo* and *S. platycephalus* should be evaluated as Endangered as each of them known to distribute only at a single location, even though their populations are intensive.

Material used in morphologic comparison: See Turan et al., (2010, 2017) and Turan & Bayçelebi (2020). The other material examined is listed below:

S. trutta: Germany, 7, 111-156; Rhine River, Plesibach Stream at Niederpleiss.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. Utku Avcı for improving the language. We also thank to Maurice Kottelat for allowing

us to use pictures of *Salmo pelagonicus* and *S. macedonicus* and Jörg Freyhof for allowing us to examine his materials. This work was supported by The Scientific and Technical Research Council of Turkey (Project No. TOVAG-106 O 259).

REFERENCES

- Bardakci, F., Degerli, N., Ozdemir, O. & Basibuyuk, H.H. (2006).** Phylogeography of the Turkish brown trout *Salmo trutta* L.: mitochondrial DNA PCR-RFLP variation. *Journal of Fish Biology*, **68**(A), 36-55.
- Behnke, R.J. (1986).** Brown trout. *Trout*, **27**, 42-47.
- Berg, L.S. (1948).** Ryby presnykh vod SSSR i sopredelnykh stan. [Freshwater fishes of the U.S.S.R. and adjacent countries.] 4th ed. vol. 1. Opredeliteli po faune SSSR. [Guide to the fauna of the U.S.S.R.], Moskva. *Freshwater Fishes of the U.S.S.R. and Adjacent Countries*, **27**, 1-466.
- Bernatchez, L. (2001).** The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation. *Evolution*, **55**(2), 351-379.
- Delling, B. & Doadrio, I. (2005).** Systematics of the trouts endemic to Moroccan lakes, with description of a new species (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **16**, 49-64.
- Delling, B. (2003).** *Species diversity and phylogeny of Salmo with emphasis on southern trouts (Teleostei, Salmonidae)* (Doctoral thesis, Stockholm University, Department of Zoology, Sweden). Retrieved from <https://www.divaportal.org/smash/record.jsf?pid=diva2%3A1067465&dsid=8326>
- Delling, B. (2011).** Diversity of western and southern Balkan trouts, with the description of a new species from the Louros River, Greece (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **21**, 331-344.
- Ferguson, A. (2004).** The importance of identifying conservation units: Brown Trout and pollan biodiversity in Ireland. *Proceedings of the Royal Irish Academy Section B* **104**(3), 33-41.
- Froese, R. & Pauly, D. (2019).** *FishBase*. World Wide Web electronic publication. Available at: www.fishbase.org (last accessed 20 November 2020).
- Geldiay, R. & Balık, S. (1999).** *Freshwater fishes of Turkey*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi

- Yayımları, No: 46, Ders Kitabı Dizini, No:16, İzmir, 519 pp. [in Turkish].
- Guinand, B., Oral, M. & Tougard, C. (2021).** Brown trout phylogenetics: a persistent mirage towards (too) many species. *Journal of Fish Biology*. (in press). DOI: [10.1111/jfb.14686](https://doi.org/10.1111/jfb.14686)
- IUCN [International Union for the Conservation of Nature]. (2020).** *IUCN Red List of threatened species*. Version 2014.3. <http://www.iucnredlist.org> [last accessed 20 November 2020].
- Jonsson, B. & Jonsson, N. (2011).** *Ecology of Atlantic Salmon and Brown trout: Habitat as a Template for Life Histories*. Heidelberg: Springer-Verlag
- Kalayci, G., Öztürk, R. C., Capkin, E. & Altinok, I. (2018).** Genetic and molecular evidence that brown trout *Salmo trutta* belonging to the Danubian lineage are a single biological species. *Journal of Fish Biology*, **93**, 792-804. DOI: [10.1111/jfb.13777](https://doi.org/10.1111/jfb.13777)
- Kaya, C. (2020).** The first record and origin of *Salmo trutta* populations established in the upper Tigris River and Lake Van Basin (Teleostei: Salmonidae). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**, 366-372. DOI: [10.35229/jaes.777575](https://doi.org/10.35229/jaes.777575)
- Kaya, C., Bayçelebi, E., Oral, M. & Turan, D. (2019).** Re-assessment of conservation status of native trout species in Turkish Mediterranean drainages (Pisces: Salmonidae). *Mediterranean biodiversity: from systematics to conservation*, p. 36. Retrieved from https://arts.units.it/retrieve/handle/11368/2951260/284569/extended_abstract_book.pdf
- Kottelat, M. & Freyhof, J. (2007).** *Handbook of European freshwater fishes*. Kottelat, Cornol & Freyhof, Berlin, 660 pp.
- Kottelat, M. (1997).** European freshwater fishes. An heuristic checklist of the freshwater fishes of Europe (exclusive of former USSR), with an introduction for non-systematists and comments on nomenclature and conservation. *Biologia*, **52**(Suppl. 5), 271pp. DOI: [10.1023/A:1007452304138](https://doi.org/10.1023/A:1007452304138)
- Kuljanishvili, T., Epitashvili, G., Freyhof, J., Japoshvili, B., Kalous, L., Levin, B., Mustafayev, N., Ibrahimov, S., Pipoyan, S. & Mumladze, L. (2020).** Checklist of the freshwater fishes of Armenia, Azerbaijan and Georgia. *Journal of Applied Ichthyology*, **36**, 501-514. DOI: [10.1111/jai.14038](https://doi.org/10.1111/jai.14038)
- Lațiu, C., Cocan, D., Uiuu, P., Ihuț, A., Nicula, S. A., Constantinescu, R., & Mireșan, V. (2020).** The Black Sea Trout, *Salmo labrax* Pallas, 1814 (Pisces: Salmonidae) in Romanian Waters. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, **77**(2), 9-19. DOI: [10.15835/buasvmcn-asb:2020.0017](https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:2020.0017)
- Ninua, L., Tarkhnishvili, D. & Gvazava, E. (2018).** Phylogeography and taxonomic status of trout and salmon from the Ponto-Caspian drainages, with inferences on European Brown Trout evolution and taxonomy. *Ecology and Evolution*, **8**, 2645-2658. DOI: [10.1002/ece3.3884](https://doi.org/10.1002/ece3.3884)
- Saç, G. & Özuluğ, M. (2019).** Freshwater fish fauna of İstanbul Province (Turkey). *Turkish Journal of Bioscience and Collections*, **3**, 19-36. DOI: [10.26650/tjbc.201930004](https://doi.org/10.26650/tjbc.201930004)
- Sanz, N. (2018).** Phylogeography history of brown trout: A review. In J. Lobón-Cerviá & N. Sanz (Eds.), *Brown trout - Biology, ecology and management* (pp. 17-63). Hoboken, NJ: Wiley. DOI: [10.1002/9781119268352.ch2](https://doi.org/10.1002/9781119268352.ch2)
- Sarı, H.M., Balık, S., Ustaoglu, R. & İlhan, A. (2006).** Distribution and Ecology of Freshwater Ichthyofauna of the Biga Peninsula, North-western Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, **30**, 35-45.
- Sarı, H.M., İlhan, A., Saç, G. & Özuluğ, M. (2019).** Fish fauna of Yıldız Mountains (Northeast Thrace, Turkey). *Su Ürünleri Dergisi*, **36**, 65-73. DOI: [10.12714/egejfas.2019.36.1.08](https://doi.org/10.12714/egejfas.2019.36.1.08)
- Sušnik, S., Knizhin, I., Snoj, A. & Weiss, S. (2006).** Genetic and morphological characterization of a Lake Ohrid endemic, *Salmo (Acantholingua) ohridanus* with a comparison to sympatric *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology*, **68**, 2-23.
- Tougaard, C., Justy, F., Guinand, B., Douzery, E.J.P. & Berrebi, P. (2018).** *Salmo macrostigma* (Teleostei, Salmonidae): nothing more than a brown trout (*S. trutta*) lineage?. *Journal of Fish Biology*, **93**, 302-310.
- Turan, D. & Bayçelebi, E. (2020).** First Record of *Salmo pelagonicus* Karaman, 1938 (Teleostei: Salmonidae) in the Karamenderes River, Turkey. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**, 551-555.
- Turan, D., Doğan, E., Kaya, C. & Kanyılmaz, M. (2014b).** *Salmo kottelati*, a new species of trout from Alakır Stream, draining to the Mediterranean in southern Anatolia, Turkey (Teleostei, Salmonidae). *Zookeys*, **462**, 135-151.
- Turan, D., Kalayci, G., Bektaş, Y., Kaya C. & Bayçelebi, E. (2020).** A new species of trout from the northern drainages of Euphrates River, Turkey

(Salmoniformes: Salmonidae). *Journal of Fish Biology*, **96**, 1454-1462. DOI: [10.1111/jfb.14321](https://doi.org/10.1111/jfb.14321)

- Turan, D., Kottelat M. & Engin, S. (2010).** *Two new species of trouts, resident and migratory, sympatric in streams of northern Anatolia (Salmoniformes: Salmonidae). Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **20**(2009 [2010]), 289-384.
- Turan, D., Kottelat M. & Engin, S. (2012).** The trouts of the Mediterranean drainages of southern Anatolia, Turkey, with description of three new species (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **23**, 219-236.
- Turan, D., Kottelat M. & Engin, S. (2014a).** Two new species of trouts from the Euphrates drainage, Turkey (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **24**, 275-287.
- Turan, D., Kottelat, M. & Bektaş, Y. (2011).** *Salmo tigridis*, a new species of trout from Tigris River, Turkey (Teleostei: Salmonidae). *Zootaxa*, **2993**, 23-33.
- Turan, D., Kottelat, M. & Kaya, C. (2017).** *Salmo munzuricus*, a new species of trout from the Euphrates River drainage, Turkey (Teleostei: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **28**, 55-63.
- Yoğurtçuoğlu, B., Kaya, C. & Freyhof, J. (2020).** Freshwater fishes of the Anatolian Midwestern Black Sea basin. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **30**(2), 111-30.



Antibacterial Effects of Boric Acid Against Aquatic Pathogens

Ecren UZUN YAYLACI

Karadeniz Technical University, Sürmene Faculty of Marine Science, Trabzon, Turkey

Geliş/Received: 16.02.2021

Kabul/Accepted: 14.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: **Uzun Yaylacı, E. (2021).** Antibacterial Effects of Boric Acid Against Aquatic Pathogens. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 240-244.
Atıf yapmak için: **Uzun Yaylacı, E. (2021).** Borik Asitin Sucul Patojenler Üzerine Olan Antibakteriyel Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi.*, 6(2), 240-244.

<https://orcid.org/0000-0002-2558-2487>

*Corresponding author's:
Ecren UZUN-YAYLACI
Karadeniz Technical University, Sürmene
Faculty of Marine Science, Trabzon, Turkey
✉: ecrenuzun@ktu.edu.tr

Abstract: Boron is a bioactive trace element generally found in rock, soil, water and air. It is an essential micronutrient for plants besides having beneficial effects on biological functions of human and animal health. Boric acid has antibacterial properties. Thus, the aim of this study was to evaluate the possible bactericidal and bacteriostatic effects of boric acid on the aquatic pathogens: *Aeromonas veronii*, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio rotiferianus*, *Vibrio tubiashii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio furnissii* and *Vibrio fluvialis*. The inhibitory properties of boric acid were detected by agar well diffusion, minimum inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) methods. The results showed that *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* and *Vibrio* species were resistant to different concentrations of boric acid. However, boric acid showed an inhibitory effect against *Aeromonas veronii* at concentrations of 3.09 and 1.54 mg/ml and zone diameters on the agar were measured as 19.4 ± 0.5 , 15.92 ± 0.6 mm, respectively. The MIC and MBC of boric acid for *Aeromonas veronii* were found to be effective at a concentration of 1.54 mg/ml. These results suggested that boric acid might serve as a potential antimicrobial agent for *Aeromonas veronii* in aquaculture.

Keywords: Antibacterial, aquatic pathogen, boric acid, MIC and MBC.

Borik Asitin Sucul Patojenler Üzerine Olan Antibakteriyel Etkileri

*Sorumlu yazar:
Ecren UZUN-YAYLACI
Karadeniz Teknik Üniversitesi, Sürmene
Deniz Bilimleri Fakültesi, Trabzon, Türkiye
✉: ecrenuzun@ktu.edu.tr

Öz: Bor, genellikle kaya, toprak, su ve havada bulunan biyoaktif bir eser elementtir. Borik asidin insan ve hayvan sağlığının biyolojik fonksiyonları üzerinde faydalı etkileri bulunmaktadır. Bitkiler için de vazgeçilmez bir mikro besin olan borik asit antibakteriyel özelliktedir. Bu çalışmanın amacı borik asidin sucul patojenlerden *Aeromonas veronii*, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*, *Vibrio anguillarum*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio rotiferianus*, *Vibrio tubiashii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio furnissii* ve *Vibrio fluvialis*'e karşı bakterisidal ve bakteriyostatik etkilerini incelemektir. Bu çalışmada, borik asidin inhibisyon özellikleri, agar kuyusu difüzyonu, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) yöntemleri kullanılarak tespit edilmiştir. Sonuçlar, *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* ve *Vibrio* türlerinin farklı konsantrasyonlardaki borik aside karşı dirençli olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, borik asit 3,09 ve 1,54 mg/ml konsantrasyonlarında *Aeromonas veronii*'ye karşı inhibitör etki göstermiştir ve agarda sırasıyla $19,4 \pm 0,5$ mm ve $15,92 \pm 0,6$ mm halka çapları ölçülmüştür. *Aeromonas veronii* için MİK ve MBK değerleri 1,54 mg/ml olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, borik asidin, su ürünleri yetiştiriciliğinde *Aeromonas veronii* için potansiyel bir antimikrobiyal ajan görevi görebileceğini ileri sürmektedir.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel, borik asit, MİK ve MBK, sucul patojen.

INTRODUCTION

Aquaculture is the world's fastest-growing food production sector. However, diseases outbreaks causing serious economic losses (Hatha et al., 2005). Antibiotic treatment has been applied for many years against bacterial infections in aquaculture (Done et al., 2015). The extensive use of antibiotics causes the change of microbiota in aquaculture and can led to development of antibiotic resistant bacteria (Akkan & Çolaker, 2020; Akkan & Topkaraoğlu, 2019; Balta et al., 2016; Balta & Dengiz Balta, 2016; 2017; 2019; Balta, 2020; Resende et al., 2012). A novel alternative to antimicrobial therapy, boric acid can be recommended for treatment of bacterial infections.

Boron is a trace element generally found in rock, soil, water, air etc. in different forms such as borates, boric acid, and boric oxide (Samman et al., 1998). It is an essential dietary component for animals in metabolic, nutritional, and physiological processes (Nielsen, 1997). In aquaculture, boron-supplemented feeds have been used in various fish species (Öz et al., 2018; Topal et al., 2016). Öz et al. (2018) reported that adding 0.05% boron to the feed improves the growth of rainbow trout. However, higher concentrations of boron can be toxic to certain animal (Goldbach et al., 2007). Boron-containing compounds exhibit antibacterial, antifungal, antiparasitic, antiviral and anti-inflammatory activities (Yang et al., 2018). Boric acid has been tested on different bacterial species for antimicrobial activity (Dinca & Scorei, 2013; Houlsby et al., 1986; Russel & Diez-Gonzalez, 1998; Yılmaz, 2012) and has been reported to have antibacterial effects on some aquatic pathogen bacteria including *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* (Sayin et al., 2016).

While there are many studies on the antimicrobial effects of boric acid in human and animal pathogens, little has been reported on the use of boric acid as an antimicrobial agent in aquatic pathogens. The objective of the present report was to evaluate whether boric acid can serve as a potential antimicrobial agent for aquatic bacterial pathogen.

MATERIAL AND METHOD

Bacterial strains and cultivation: The following species of bacteria which are isolated from naturally infected sea bass (*Dicentrarchus labrax*) were used in the study; *Vibrio vulnificus* (KF443055), *Vibrio harveyi* (KF443059), *Vibrio rotiferianus* (KF443057), *Aeromonas veronii* (KF443052) and *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* (KF443044) confirmed previously by Uzun and Ogut (2015); *Vibrio anguillarum* (MH036330.1), *Vibrio tubiashii* (KY003125.1), *Vibrio parahaemolyticus*

(EF684942.1), *Vibrio furnissii* (MG214325.1) and *Vibrio fluvialis* (KC208202.1) confirmed previously by Uzun (2019). Bacterial cultures were grown overnight on tryptic soy agar (TSA) (+1.5% NaCl) at 24-26 °C for 24 h. The concentration of bacterial suspensions in tryptic soy broth (TSB) was adjusted by spectrophotometer to an optical density of 0.10 at 625 nm. Equivalent to concentrations of $1-5 \times 10^8$ CFU/ml based on a 0.5 McFarland standard.

Diffusion test: The agar well diffusion assay with modification after Perez et al. (1990) was carried out to screening the inhibitory activity of boric acid (H_3BO_3 , M = 61.83 g/mol). 50 µl of bacterial suspensions approximately containing of $1-5 \times 10^8$ CFU/ml was spread on tryptic soy agar (TSA) (+1.5% NaCl) plates. Wells of 5 mm in diameter were tip-punched in the agar and filled with 40 µl 3.09 mg/ml, 1.54 mg/ml, 0.77 mg/ml, 0.38 mg/ml and 0.19 mg/ml of boric acid. Plates were incubated at 24-26 °C for 24 h, inhibitory zone was measured. All experiments were repeated in triplicate.

MIC Determination: Minimum inhibitory concentration was calculated by standard macro-dilution method. Serial two-fold gradient dilutions of boric acid in concentrations ranging from 3.09 mg/ml to 0.19 mg/ml were prepared in TSB. Bacterial suspension adjusted to a McFarland standard 0.5 were added to all tubes and incubated at 24-26 °C for 24 h. A tube containing only TSB was used as a negative control and only inoculated TSB with no boric acid served as positive control. The experiments were repeated three times and compared to the controls. The MIC is the lowest concentration of boric acid where no visible growth is seen in the tubes.

MBC Determination: After the MIC determination of the boric acid, mixture of 50 µl from all the tubes which showed no visible bacterial growth were streaked on (TSA) (+1.5% NaCl) plates and incubated at 24-26 °C for 24 h. The MBC was determined by the lowest concentration that kills 99.9% of the initial bacterial population.

RESULTS

Diffusion test: Boron-containing compounds exhibit antibacterial, antifungal, antiparasitic, antiviral and anti-inflammatory activities (Yang et al., 2018). Boric acid has previously been reported to have antibacterial effects on some aquatic pathogens including *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio anguillarum*, *Yersinia ruckeri* and *Lactococcus garvieae* (Sayin et al., 2016). However, no study has evaluated the effects of boric acid on *Aeromonas veronii*. In this study, the inhibitory activity of boric acid was tested using agar well diffusion method. Inhibition determined based on the diameter of halos (Fig. 1). The results indicated that *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* and *Vibrio* species were resistant to boric acid.

However, boric acid showed an inhibitory effect against *Aeromonas veronii* with the concentrations of 3.09 and 1.54 mg/ml. Zone diameters were measured as 19.4 ± 0.5 mm, 15.92 ± 0.6 mm, respectively.

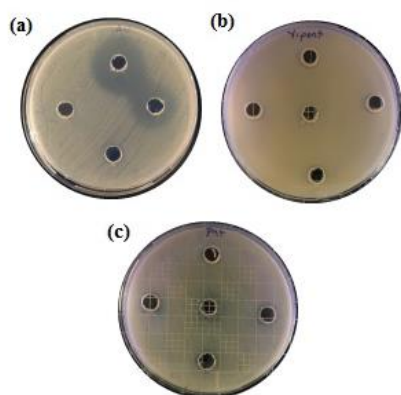


Figure 1. Inhibition zones. (a) *Aeromonas veronii*, (b) *Vibrio ponticus*, (c) *Photobacterium damsela subsp. damselae*

MIC and MBC Determination: The antibacterial effects of drugs are routinely evaluated by agar diffusion and MIC test. The advantage of direct contact tests over agar diffusion method is that they are independent of the diffusion properties of the material and medium under test (Estrela et al., 2001). Therefore, the MIC test is used to determine the lowest concentration of material that will still exhibit antibacterial properties. In this study, after 24 h of incubation at 24-26°C for *Aeromonas veronii*, turbidity was noticed in the test tubes 0.19, 0.38 and 0.77 mg/ml containing boric acid indicating the growth of bacteria. Whereas in concentrations of 3.09 and 1.54 mg/ml, no turbidity was seen, exhibiting inhibition of bacterial growth. The suspension from the tubes of 3.09 and 1.54 mg/ml was inoculated on TSA (+1.5% NaCl) plates and incubated for 24 h at 24-26°C and no growth of bacteria was observed in both concentrations hence confirming it as bactericidal. These results showed that the MIC and MBC of boric acid for *Aeromonas veronii* were found to be effective at concentration of 1.54 mg/ml. The MIC and MBC values of boric acid on bacteria are important, as these values can be used in future research for antibiotic development (Yilmaz, 2012). The MIC and MBC assays illustrated at Figure 2.

Aeromonas spp., including *Aeromonas veronii* is an important fish pathogen that can be found in the normal micro flora of animals (Smyrli et al., 2017; Uzun & Ogut 2015). These pathogens cause various infections in humans, such as endocarditis, gastroenteritis, peritonitis, and septicemia (Janda & Abbott, 2010). They are also primary pathogens in farmed fish (Hossain et al., 2019). *A. veronii* has been described as an important pathogen of human beings as well as aquatic animals (Cui et al., 2007). *Aeromonas* species have the capacity to transport and

acquire antimicrobial resistance elements, and multi-drug resistant *Aeromonas* isolates are now widely available worldwide (Tekedar et al., 2020). Therefore, a novel alternative to antimicrobial therapy, boric acid can be recommended for treatment of bacterial infections. Boron containing compounds impair various enzymes including the serine protease family of β -lactamase (Morandi et al., 2008). Boron is involved in quorum sensing, which is an important mechanism in developing antimicrobial effect (Houlsby et al., 1986; Reichman et al., 2009; Watanabe et al., 1988;). In this study, although some *in vitro* inhibitory effects of boric acid on *Aeromonas veronii* were examined, the mechanism of action of the compound on bacteria is not fully elucidated and is the focus of future studies.

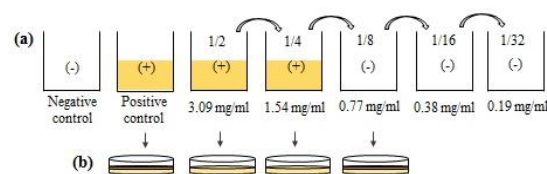


Figure 2. Dilution method for a) the MIC assay and b) the MBC assay.

CONCLUSION

In aquaculture, the use of new antimicrobial agents as an alternative to antibiotics is of great importance in preventing the development of resistance genes in pathogenic bacteria. The findings in this study, MICs of 3.09 and 1.54 mg/ml respectively of boric acid has antimicrobial effects against *Aeromonas veronii*. The results presented here provide evidence that boric acid might serve as a potential antimicrobial agent for *Aeromonas veronii* in aquaculture, but further experiments are required to evaluate the inhibitory mechanism of boric acid and determine its effect on fish.

REFERENCES

- Akkan, T. & Çolaker, F. (2020). Determining the bacteriological pollution level of Gelevera Creek, Giresun. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(4), 691-695. DOI: 10.35229/jaes.818132
- Akkan, T. & Topkaraoğlu, T. (2019). Determination of antibiotic resistance levels of *Escherichia coli* isolates obtained from freshwater sources: Batlama Creek. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3), 539-544. DOI: 10.35229/jaes.650210
- Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2016). Vibrio infection and treatment on the juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) transferred seawater. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 1(1), 14-20.
- Balta, F. Dengiz Balta, Z. Özgümüş, O.B. & Çağırğan, H. (2016). The antimicrobial resistance and investigation of *Yersinia ruckeri* from rainbow

- trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the Eastern Black Sea Region. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **1**(3), 72-76.
- Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2017).** Serotyping, genetic characterization and antimicrobial susceptibility determination of *Vibrio anguillarum* strains isolated from farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the eastern Black Sea. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, **64**, 321-328.
- Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2019).** The isolation of *Lactococcus garvieae* from eyes of diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with exophthalmia. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(1), 27-33. DOI: [10.35229/jaes.527258](https://doi.org/10.35229/jaes.527258)
- Balta, F. (2020).** Determination of the antimicrobial susceptibilities of *Aeromonas* spp. isolated from rainbow trout farms on the Fırtına river. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(3), 397-407. DOI: [10.35229/jaes.785447](https://doi.org/10.35229/jaes.785447)
- Cui, H., Hao, S. & Arous, E. (2007).** A distinct cause of necrotizing fasciitis: *Aeromonas veronii* biovar *sobria*. *Surgical Infections*, **8**, 523-528. DOI: [10.1089/sur.2006.046](https://doi.org/10.1089/sur.2006.046)
- Dinca, L. & Scorei, R. (2013).** Boron in Human Nutrition and its Regulations Use. *Journal of Nutritional Therapeutics*, **2**, 22-29. DOI: [10.6000/1929-5634.2013.02.01.3](https://doi.org/10.6000/1929-5634.2013.02.01.3)
- Done, H.Y., Venkatesan, A.K. & Halden, R.U. (2015).** Does the recent growth of aquaculture create antibiotic resistance threats different from those associated with land animal production in agriculture? *American Association of Pharmaceutical Scientists Journal*, **17**, 513-524. DOI: [10.1208/s12248-015-9722-z](https://doi.org/10.1208/s12248-015-9722-z)
- Estrela, C., Rodrigues de Araújo Estrela, C., Bammann, L.L. & Pecora, J.D. (2001).** Two methods to evaluate the antimicrobial action of calcium hydroxide paste. *Journal of Endodontics*, **27**(12), 720-723. DOI: [10.1097/00004770-200112000-00002](https://doi.org/10.1097/00004770-200112000-00002)
- Goldbach, H.E., Huang, L. & Wimmer, M.A. (2007).** Boron functions in plants and animals: recent advances in boron research and open questions. In: Xu F, Goldbach H, Brown PH, Bell RW, Fujiwara T, Hunt CD, Goldberg S, Shi LF. (Ed). 3-25p *Advances in plant and animal boron nutrition*. Dordrecht: Springer.
- Hatha, M., Vivekanandhan, A.A, Joice, G.J. & Christol. (2005).** Antibiotic resistance pattern of motile aeromonads from farm raised freshwater fish. *International Journal of Food Microbiology*, **98**(2), 131-134. DOI: [10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.017](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.017)
- Hossain, S., Dahanayake, P.S., De Silva, B.C.J., Wickramanayake, M.V.K.S., Wimalasena, S.H.M.P. & Heo, G.J. (2019).** Multi-drug resistant *Aeromonas* spp. isolated from zebrafish (*Danio rerio*): antibiogram, antimicrobial resistance genes and class 1 integron gene cassettes. *Letters in Applied Microbiology*, **68**, 370-377. DOI: [10.1111/lam.13138](https://doi.org/10.1111/lam.13138)
- Houlsby, R.D., Ghajar, M. & Chavez, G.O. (1986).** Antimicrobial activity of borate-buffered solutions. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **29**, 803-806. DOI: [10.1128/aac.29.5.803](https://doi.org/10.1128/aac.29.5.803)
- Janda, J.M. & Abbott S.L. (2010).** The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical Microbiology Reviews*, **23**, 35-73. DOI: [10.1128/CMR.00039-09](https://doi.org/10.1128/CMR.00039-09)
- Morandi, S., Morandi, F., Caselli, E., Shoichet, B.K. & Prati, F. (2008).** Structure-based optimization of cephalothin-analogue boronic acids as beta-lactamase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **16**, 1195-1205. DOI: [10.1016/j.bmc.2007.10.075](https://doi.org/10.1016/j.bmc.2007.10.075)
- Nielsen, F.H. (1997).** Boron in human and animal nutrition. *Plant and Soil*, **193**, 199-208.
- Öz, M., Inanan, B.E. & Dikel, S. (2018).** Effect of boric acid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) growth performance. *Journal of Applied Animal Research*, **46**(1), 990-993. DOI: [10.1080/09712119.2018.1450258](https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1450258)
- Perez, C., Paul, M. & Bazerque, P. (1990).** An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Biologica Et Medicinæ Experimentalis*, **15**, 113-115.
- Reichman, O., Akins, R. & Sobel, J.D. (2009).** Boric acid addition to suppressive antimicrobial therapy for recurrent bacterial vaginosis. *Sexually Transmitted Diseases*, **36**(11), 732-734. DOI: [10.1097/OLQ.0b013e3181b08456](https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181b08456)
- Resende, J.A., Silva, V.L., Fontes, C.O., Souza-Filho, J.A., Rocha de Oliveira, T.L., Coelho, C.M., César, D.E., & Diniz, C.G. (2012).** Multidrug-resistance and toxic metal tolerance of medically important bacteria isolated from an aquaculture system. *Microbes Environments*, **27**, 449-455. DOI: [10.1264/jsme2.me12049](https://doi.org/10.1264/jsme2.me12049)
- Russel, J.B. & Diez-Gonzalez, F. (1998).** The effects of fermentation acids on bacterial growth. *Advances in Bacterial Physiology*, **39**, 205-234. DOI: [10.1016/s0065-2911\(08\)60017-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(08)60017-x)
- Samman, S., Naghii, M.R., Lyons Wall, P.M. & Verus, A.P. (1998).** The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. *Biological Trace Element Research*, **66**, 227-235. DOI: [10.1007/BF02783140](https://doi.org/10.1007/BF02783140)

- Sayin, Z., Ucan, U.S. & Sakmanoglu, A. (2016).** Antibacterial and Antibiofilm Effects of Boron on Different Bacteria. *Biological Trace Element Research*, **173**, 241-246. DOI: [10.1007/s12011-016-0637-z](https://doi.org/10.1007/s12011-016-0637-z)
- Smyrli, M., Prapas, A., Rigos, G., Kokkari, C., Pavlidis, M. & Katharios, P. (2017).** *Aeromonas veronii* infection associated with high morbidity and mortality in farmed European seabass *Dicentrarchus labrax* in the Aegean Sea, Greece. *Fish Pathology*, **52**, 68-81. DOI: [10.3147/JSFP.52.68](https://doi.org/10.3147/JSFP.52.68)
- Tekedar, H.C., Arick, M.A., Hsu, C.Y., Thrash, A., Blom, J., Lawrence, M. L. & Abdelhamed, H. (2020).** Identification of Antimicrobial Resistance Determinants in *Aeromonas veronii* Strain MS-17-88 Recovered From Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **10**, 348. DOI: [10.3389/fcimb.2020.00348](https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00348)
- Topal, A., Oruç, E., Altun, S., Ceyhun, S.B. & Atamanalp, M. (2016).** The effects of acute boric acid treatment on gill, kidney and muscle tissues in juvenile rainbow trout. *Journal of Applied Animal Research*, **44**(1), 297-302. DOI: [10.1080/09712119.2015.1031784](https://doi.org/10.1080/09712119.2015.1031784)
- Uzun, E. & Ogut, H. (2015).** The Isolation Frequency of Bacterial Pathogens from Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) in the Southeastern Black Sea. *Aquaculture*. **437**, 30-37. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2014.11.017](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.11.017)
- Uzun-Yaylacı, E. (2019).** Developing a differentiation technique for the pathogenic bacteria causing disease in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) by using artificial neural networks. Doctoral thesis, Karadeniz Technical University, The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Trabzon, Turkey, 49-50p.
- Watanabe, S., Fujita, T. & Sakamoto, M. (1988).** Antimicrobial properties of boric acid esters of alcohols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, **65**, 1479-1482. DOI: [10.1007/BF02898312](https://doi.org/10.1007/BF02898312)
- Yang, F., Zhu, M., Zhang, J. & Zhou, H. (2018).** Synthesis of biologically active boron-containing compounds. *Medicinal Chemistry Communications*, **9**, 201-211. DOI: [10.1039/c7md00552k](https://doi.org/10.1039/c7md00552k)
- Yılmaz, M.T. (2012).** Minimum inhibitory and minimum bactericidal concentrations of boron compounds against several bacterial strains. *Turkish Journal of Medical Sciences*, **42**,1423-1429. DOI: [10.3906/sag-1205-83](https://doi.org/10.3906/sag-1205-83)



Maskeli Örümcek Kuşunun (*Lanius nubicus*, Lichtenstein 1823) İklim Değişimi Etkisi Altındaki Dağılımı

Akın KIRAÇ^{1*} Emrah ERTUĞRUL²

¹Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Tasarım Bölümü Çanakkale, Türkiye

²Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bayramiç Meslek Yüksekokulu Ormanlık Bölümü Çanakkale, Türkiye

Geliş/Received: 04.03.2021

Kabul/Accepted: 24.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atf yapmak için: Kırac, A. & Ertuğrul, E. (2021). Maskeli Örümcek Kuşunun (*Lanius nubicus*, Lichtenstein 1823) İklim Değişimi Etkisi Altındaki Dağılımı. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 245-251.

How to cite: Kırac, A. & Ertuğrul, E. (2021). Distribution of Masked Shrike (*Lanius nubicus*, Lichtenstein 1823) Under The Influence of Climate Change. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 245-251.

* <https://orcid.org/0000-0001-5596-2256>
 <https://orcid.org/0000-0001-5425-8224>

***Sorumlu yazarın:**

Akın KIRAÇ
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu
Tasarım Bölümü Çanakkale, Türkiye
 akinkirac@comu.edu.tr

Öz: Biyolojik çeşitliliğin sürdürülebilirliği için en ciddi tehdit iklim değişikliğidir. İklim değişikliğinin ekolojik sonuçlarını tahmin etmenin en iyi yolu tür dağılım modellemeleridir. Bu çalışmada Maskeli örümcek kuşunun (*Lanius nubicus*) iklim değişikimi etkisi altındaki dağılımı 2021- 2100 seneleri arasındaki yirmişer yıllık periyotlar için modellenmiştir. Modellemede yeni nesil iklim değişikimi senaryoları olan SSPs (sosyo ekonomik rotalar) senaryoları kullanılmıştır. Sonuçlara göre model eğitim verisi AUC değeri 0.989 ve test verisi AUC değeri 0.980 bulunmuştur. Maskeli örümcek kuşunun dağılımını sınırlayan bioiklim değişkenlerinin Bio19, Bio8, Bio12, Bio7 olduğu tespit edilmiştir. Model sonuçlarına göre, yüzyılın sonuna doğru Kuzey Afrika'da ve Basra Körfezi'nde habitat kayıpları olacağı öngörülmüşken, Anadolu'da bu tür için uygun habitatların artışı dikkat çekmektedir. Kıbrıs' da ise kötümser senaryo etkisi altında habitat kayıpları öngörülmüştür. Diğer bir sonuç ise, en kötümser iklim senaryosuna göre Maskeli örümcek kuşu (*Lanius nubicus*) dağılım alanının içinde yer alan Doğu Akdeniz Havzası'nın 2100 yılına kadar uygun iklim koşullarını desteklemeye devam edeceği olduğu. Önemli bir refüj olan bu alanın paleoklimatolojik olaylar sırasında olduğu gibi, gelecekte de iklim değişikliği etkilerinin yaşandığı zaman diliminde aynı görevi göreceği öngörülmüştür.

Anahtar kelimeler: MaxEnt, refüj, sosyo-ekonomik rotalar, tür dağılım modeli.

Distribution of Masked Shrike (*Lanius nubicus*, Lichtenstein 1823) Under The Influence of Climate Change

Abstract: The most serious threat to the sustainability of biological diversity is climate change. The best way to predict the ecological consequences of climate change now is species distribution modeling. In this study, the distribution of the masked spider bird (*Lanius nubicus*) under the effect of climate change is modeled for twenty-year periods between 2021 and 2100. SSPs (socio-economic pathways) scenarios, which are new generation climate change scenarios, have been used. According to the results, the model training data AUC value was 0.899 and the test data AUC value was 0.980. Bioclimate variables limiting the distribution of the masked shrike were determined to be Bio19, Bio8, Bio12, Bio7. It is predicted that there will be habitat losses in North Africa and the Persian Gulf towards the end of the century. The increase in habitats suitable for this species in Anatolia is remarkable. In Cyprus, habitat losses are predicted under the effect of pessimistic scenario. Another result is that according to the most pessimistic climate scenario, it is predicted that the Eastern Mediterranean Basin, which is within the Masked Shrike (*Lanius nubicus*) distribution, will continue to support suitable climatic conditions until 2100. It is predicted that this area, which is an important refuge, will serve the same task during climate change in the future, as during paleoclimatological events.

***Corresponding author's:**

Akın KIRAÇ
Çanakkale Onsekiz Mart University
Technical Sciences Vocational School
Design Department Çanakkale, Turkey
 akinkirac@comu.edu.tr

Keywords: MaxEnt, refuge, socio-economic pathways, species distribution model.

GİRİŞ

İklim değişimi, ekosistemler ve biyolojik çeşitlilik için en önemli tehdit unsurlarından biridir (Parmesan & Yohe, 2003; Pereira vd., 2010). Günümüzde birçok türün popülasyonunun azalması ve neslinin tükenmesi iklim değişikliği ile açıklanmaktadır (Sinervo vd., 2017). Sanayi devriminden günümüze kadar olan süreçte dünyanın yaklaşık 1 °C'lik bir artış ile ısınma eğiliminde olduğu bilinmektedir. Atmosferdeki CO₂ oranı son 1000 yıla göre bu yüzyılda en yüksek değerlere ulaşmıştır (Carbonbrief, 2019). Bu değişimleri takip eden Hükümetler Arası İklim Değişikliği Paneli (IPCC) şu an 6. dönemindedir ve bilim adamlarının iklim değişimi verileri ile simülasyonlar yapabilmeleri için Mart 2020'de yeni nesil iklim senaryoları olan SSPs (Sosyo ekonomik senaryolar) senaryolarını yayınlamıştır. Bu yeni nesil senaryolar; SSPs126, SSPs245, (iyimser), SSPs370 (orta yol) ve SSPs585 (kötümser) senaryoları olmak üzere, 20 yıllık süreçler halinde worldclim.org adresinde erişime açık halde yayınlanmıştır (Carbonbrief, 2019; Özdemir vd., 2020a). Türlerin iklim değişiminden oldukça fazla etkileneceğini gösteren önceki çalışmalar gibi (Adams-Hosking vd., 2011; Evangelista vd., 2011; Evcin vd., 2019; Fordham vd., 2012; Kıraç & Mert 2019; Özdemir vd., 2020b), birçok canlı grubunun iklim değişimine gösterdiği tepki, habitat parçalanmaları, popülasyon azalmaları gibi durumlar bu yeni nesil iklim değişim senaryolarının ön gördüğü değişimlerin yardımı ile tahmin edilebilmektedir.

Bir türün, iklim değişimi etkisi altında dağılımını nasıl değiştireceğini ve nasıl tepki göstereceğini tahmin etmek için kullanılacak en iyi yöntem, türün bugünkü iklim tercihlerinin gelecekte nerelerde olacağını kestirmektir. Bunun için en iyi yol, tür dağılım modellerinin geleceğe projeksiyonunu yapmaktır (Wiens vd., 2009). Son yıllarda bu tür araştırmalarda yapılan iklimsel modelleme "iklim örüntü modeli" adını almıştır. İklim örüntü modeli, çevresel uygunluğun mekânsal tahminlerini yapmak için iklim değişkenlerini kullanan bir tür dağılım modelinin alt kümesidir (Hijmans & Graham, 2006). Bu tür modeller yapmak için model algoritması iyi seçilmelidir. MaxEnt yaklaşımı, sadece var/bulunma verisi ile çalışması, tahmin gücünün diğer algoritmalarından yüksek olması, gelecek iklim projeksiyonu yapabilmesi ve sonuç çıktılarının yanı sıra harita çıktısı da üretmesi nedeniyle, son yıllarda modelleme çalışmalarında tercih edilmesi bakımından diğer algoritmaların önünde yer almaktadır (Elith vd., 2011).

Yaban hayatı unsurlarından biri olan kuşlar, iklimsel değişimlerden en çok etkilenen canlı gruplarından biridir (Møller vd., 2010). Kuşlar biyolojik çeşitlilik açısından bir öneme sahip olmakla birlikte, ekosistem sağlığı açısından da yararlı canlılar olarak bilinmektedir (Dowald, 2009; Eaton vd., 2005; Gregory

vd., 2005; Gregory vd., 2009). Kuşlar, iklim değişikliği etkilerine göç mekanizması ile tepki gösteren canlılardır (Alerstam vd., 2003). Göç, normal koşullarda kuşların mevsim değişimleri ve beslenme amacıyla yaptıkları bir davranış biçimidir (Berthold vd., 1992). Bu amaçla her yıl milyonlarca kuş, üreme ve kışlama alanları arasında göç etmektedir. Günümüzde kuşların göç yolları, mola ve kışlama alanları ve bunlar için ayırdıkları süreler, halkalama izleme teknikleri ile detaylı şekilde kaydedilip değerlendirilmektedir (Meier vd., 2020; Karaardıç & Erdoğan, 2019; Wilkins vd., 2016). Özellikle Türkiye'nin güneydeki kıyı şeridi iklim, güvenlik ve besin açısından göçmen kuşlara zengin fırsatlar sunmaktadır (Karaardıç & Erdoğan, 2019).

Dünya genelinde her yıl 10 milyon kuş göç etmektedir (Birdlife vd., 2010). Ülkemizde bulunan kuş türlerinin de yaklaşık %20'si göçmen kuşlardır (Kızıroğlu, 2008). Türkiye'de bulunan göçmen kuş türlerinden biri de maskeli örümcek kuşu (*Lanius nubicus* Lichtenstein 1823)' dur. Yaz göçmeni olan maskeli örümcek kuşu, Türkiye, Kıbrıs, İsrail ve Suriye'de büyük popülasyonlara sahip olmakla beraber İran'ın batısında da (Basra Körfezi) ayrı bir popülasyonu bulunmaktadır. Ayrıca, kış mevsimini kuzeydoğu Afrika'da geçirdiği bilinmektedir (Chown, 2003). IUCN (Tehdit altındaki türlerin kırmızı listesi) kriterlerine göre maskeli örümcek kuşu asgari endişe (LC) kategorisinde yer almasına rağmen, popülasyon durumu azalma eğilimindedir. Maskeli örümcek kuşunun 10 yıl içinde toplam popülasyonunun %30'unun azalacağı düşünülmektedir (IUCN, 2019). Türkiye'de üreyen örümcek kuşlarının 1998-2003 yıllarında yaygın olduğu belirlenmiştir. Ancak maskeli örümcek kuşu türü için habitat kayıpları yaşandığı tespit edilmiş ve bu habitatların tehdit altında oldukları bildirilmiştir (Perktaş, 2004).

Bu çalışmanın amacı, maskeli örümcek kuşunun yakın geçmişteki (1970-2000) iklimsel dağılımının ve iklim tercihlerinin belirlenmesi bağlamında yeni nesil iklim senaryoları etkisi altındaki dağılımlarının ve habitat durumlarının ortaya koyulmasıdır.

MATERYAL VE METOT

Tür verileri: Maskeli örümcek kuşuna ait 260 adet WGS84 koordinat sistemindeki var/bulunma verileri, yaklaşık 400 milyon türe ait var/bulunma verisini kullanıcıların erişimine açık halde sunan GBIF' den (Küresel biyoçeşitlilik bilgi tesisi) indirilmiştir (Gaiji vd., 2013). İndirilen klasör içinde "occurrence.txt" dosyası Excel yazılımında açılarak koordinat bilgileri elde edildi. Hedef türe ait var/bulunma verileri "csv" dosyası şeklinde analize hazır hale getirilmiştir.

İklim değişkenleri: Yakın geçmiş (1970-2000) ve SSPs126 ve SSPs585 senaryoları (2021-2100' e kadar 20

yıllık periyotlar halinde) worldclim.org adresinden 2,5'er dakika çözünürlüğündeki CanESM5 küresel iklim modeli bazlı iklim senaryoları indirilmiştir. Yapılan analizlerde CanESM5' in hassasiyeti diğer sekiz küresel iklim modeline göre, yüksek olduğu için tercih edilmiştir (Carbonbrief, 2019). Daha sonra bu veriler ilgili paketler, kütüphaneler ve komutlar girilerek açık erişimli "R" yazılımında "asc" dosyası haline dönüştürülerek analize hazır hale getirilmiştir. Elde edilen iklim değişkenlerinin koordinat sistemi WGS84' dür. Bu çalışmada bir iyimser ve bir kötümser senaryoya ait bioiklim değişkenleri kullanılmıştır.

SPPs126 senaryosu en fazla 1.5 °C' lik bir sıcaklık artışının öngörüldüğü en iyimser iklim değişim senaryosudur ve iklim politikaları ile yönetilen bir dünyayı temsil etmektedir. SSPs585 senaryosu ise en kötü sonuçların ortaya çıkacağı bir senaryodur ve ısınma 4-5 °C civarında seyredecektir (Carbonbrief, 2019).

İstatistik ve Analiz: İklim değişkenleri arasında oluşabilecek çoklu bağlantı problemlerinden uzaklaşmak için 19 adet biyoiklim değişkeni için Pearson korelasyon analizi uygulanmıştır. R² değeri 0,85 değerinden büyük olan değişkenler analize girmeyerek elenmiştir. Sürece Bio2, Bio3, Bio5, Bio6, Bio7, Bio8, Bio9, Bio12, Bio14, Bio15, Bio16 ve Bio18 değişkenleri ile devam edilmiştir (Tablo 1).

İklim örüntü modeli oluşturmak için MaxEnt 3.4.1 (Phillips vd., 2017) yazılımı kullanılmıştır. MaxEnt,

hangi çevresel koşulların organizmaların dağılımını etkilediğini, organizmaların mevcudiyet verileriyle ilgili olarak tahmin eder (Baldwin, 2009). Analiz sürecinde 260 adet maskeli örümcek kuşu var/bulunma verileri, %75 eğitim verisi ve %25 test verisi olarak dilimlenmiştir. Her model 10 tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. Böylece her tekerrürde farklı yerdeki örneklerin eğitim ve test setleri içine katılması sağlanmıştır. Model oluştuktan sonra jackknife grafikleri incelenmiş ve modele katkı sağlamayan değişken bir sonraki aşamaya alınmayarak elenmiştir. Analizlere en son iki değişken kalıncaya kadar devam edilmiştir (Süel vd., 2018). Elde edilen modeller içinde en yüksek AUC değerine sahip model seçilmiştir. Modele ait haritalar ArcMap10.2 yazılımında hazırlanmıştır. Seçilen modelin AUC değeri ">0,90: mükemmel, 0,90-0,80: iyi, 0,80-0,70: uygun, 0,70-0,60: zayıf, <0,60: bilgi vermeyen" şeklinde değerlendirilmiştir (Phillips vd., 2006). Bu aşamaya kadar elde edilen model yakın geçmişe (1970-2000) aittir. Yakın geçmiş modelinde belirlenen iklim değişkenleri hedef türümüzün dağılımını sınırlayan değişkenlerdir. Bu değişkenlerin gelecek iklim senaryolarındaki karşılığı olan iklim değişkenleri analize çağrılmıştır ve yakın geçmiş iklim değişkenleri ile birlikte analiz edilmiştir. Elde edilen model sonuç haritaları ArcMap 10.2 yazılımında görselleştirilmiştir ve böylece günümüz ile gelecek arasındaki farklılıklar ya da benzerlikler gözlemlenmiştir.

Tablo 1. Bioiklim değişkenleri için uygulanan Pearson korelasyon analizi sonuçları (R²>0,85).

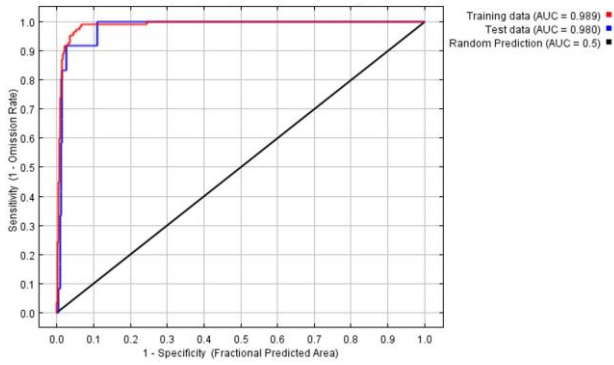
Table 1. Pearson correlation analysis results applied for bioclimate variables (R²>0.85).

	Bio1	Bio10	Bio11	Bio12	Bio13	Bio14	Bio15	Bio16	Bio17	Bio18	Bio19	Bio2	Bio3	Bio4	Bio5	Bio6	Bio7	Bio8	Bio9	
Bio1		0,94	0,939	-0,41	-0,175	-0,568	0,425	-0,183	-0,582	-0,564	-0,149	0,561	0,697	-0,034	0,864	0,848	0,187	0,876	0,764	
Bio10	0,94		0,78	-0,33	-0,179	-0,405	0,319	-0,185	-0,406	-0,405	-0,158	0,64	0,623	0,091	0,967	0,664	0,458	0,768	0,838	
Bio11	0,939	0,78		-0,36	-0,081	-0,65	0,493	-0,093	-0,662	-0,635	-0,056	0,352	0,655	-0,358	0,66	0,967	-0,134	0,878	0,629	
Bio12	-0,41	-0,328	-0,36		0,916	0,287	0,131	0,923	0,346	0,341	0,901	-0,392	-0,231	0,07	-0,321	-0,255	-0,124	-0,453	-0,14	
Bio13	-0,18	-0,179	-0,081	0,916		-0,06	0,447	0,998	-0,015	-0,004	0,994	-0,296	-0,016	-0,13	-0,194	0,022	-0,233	-0,259	0,007	
Bio14	-0,57	-0,405	-0,65	0,287	-0,06		-0,707	-0,047	0,982	0,954	-0,1	-0,199	-0,393	0,375	-0,339	-0,649	0,205	-0,38	-0,421	
Bio15	0,425	0,319	0,493	0,131	0,447	-0,707		0,439	-0,719	-0,704	0,473	0,14	0,473	-0,26	0,28	0,512	-0,148	0,243	0,554	
Bio16	-0,18	-0,185	-0,093	0,923	0,998	-0,047	0,439		-0,001	0,008	0,995	-0,291	-0,018	-0,12	-0,198	0,008	-0,224	-0,27	0,004	
Bio17	-0,58	-0,406	-0,662	0,346	-0,015	0,982	-0,719	-0,001		0,972	-0,056	-0,268	-0,454	0,392	-0,354	-0,641	0,183	-0,42	-0,402	
Bio18	-0,56	-0,405	-0,635	0,341	-0,004	0,954	-0,704	0,008	0,972		-0,048	-0,21	-0,372	0,349	-0,341	-0,633	0,188	-0,384	-0,412	
Bio19	-0,15	-0,158	-0,056	0,901	0,994	-0,1	0,473	0,995	-0,056	-0,048		-0,27	0,005	-0,137	-0,174	0,043	-0,229	-0,256	0,026	
Bio2	0,561	0,64	0,352	-0,39	-0,296	-0,199	0,14	-0,291	-0,268	-0,21	-0,27		0,755	0,414	0,787	0,12	0,753	0,439	0,463	
Bio3	0,697	0,623	0,655	-0,23	-0,016	-0,393	0,473	-0,018	-0,454	-0,372	0,005	0,755		-0,069	0,67	0,498	0,286	0,644	0,482	
Bio4	-0,03	0,291	-0,358	0,07	-0,13	0,375	-0,26	-0,12	0,392	0,349	-0,137	0,414	-0,069		0,427	-0,477	0,901	-0,2	0,286	
Bio5	0,864	0,967	0,66	-0,32	-0,194	-0,339	0,28	-0,198	-0,354	-0,341	-0,174	0,787	0,67	0,427		0,504	0,635	0,679	0,809	
Bio6	0,848	0,664	0,967	-0,26	0,022	-0,649	0,512	0,008	-0,641	-0,633	0,043	0,12	0,498	-0,477	0,504		-0,331	0,801	0,562	
Bio7	0,187	0,458	-0,134	-0,12	-0,233	0,205	-0,148	-0,224	0,183	0,188	-0,229	0,753	0,286	0,901	0,635	-0,331		0,031	0,38	
Bio8	0,876	0,768	0,878	-0,45	-0,259	-0,38	0,243	-0,27	-0,42	-0,384	-0,256	0,439	0,644	-0,2	0,679	0,801	0,031		0,529	
Bio9	0,764	0,838	0,629	-0,14	0,007	-0,421	0,554	0,004	-0,402	-0,412	0,026	0,463	0,482	0,286	0,809	0,562	0,38	0,529		
N	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260

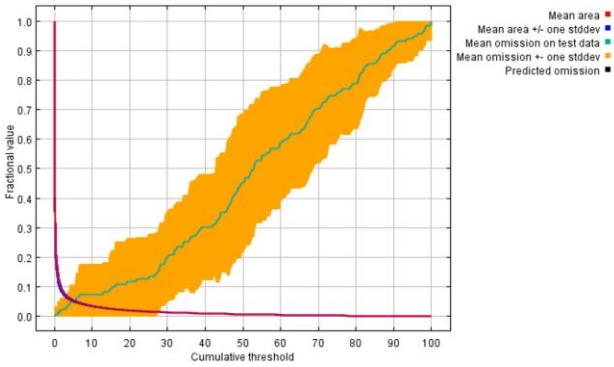
BULGULAR

Maskeli örümcek kuşu iklim örüntü modeli için eğitim veri seti AUC değeri 0,989, test veri seti AUC değeri 0,980 bulunmuştur. Bu sonuçlara göre iklim örüntü modeli mükemmel model kategorisinde değerlendirilmiştir (Şekil 1). Şekil 2' de ise test ihmal oranını ve tahmin edilen alanı, tekrarlı çalıştırmalar üzerinden ortalaması alınan kümülatif eşik bir fonksiyonu olarak gösterilmektedir.

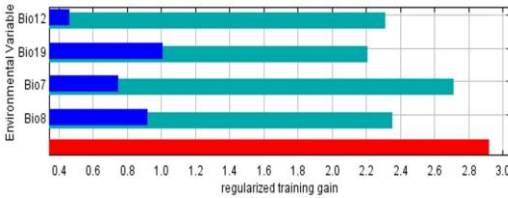
İhmal oranı, tahmin edilen ihmal oranına yakın olmalıdır. Bu durum bize elde edilen modelin yeterli eğitim verisi ve test verisi ile analiz edildiğini ve modelin geçerliliğini göstermektedir (Şekil 2). Modele katkı sağlayan ve maskeli örümcek kuşunun dağılımını iklimsel olarak sınırlayan bioiklim değişkenlerinin Bio19 (En soğuk çeyreğin yağış miktarı), Bio8 (En nemli çeyreğin ortalama sıcaklığı), Bio12 (Yıllık yağış) ve Bio7 (Yıllık sıcaklık oranı (Bio5-Bio6)) olduğu belirlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 1. Eğitim seti ve test seti AUC değerleri.
Figure 1. Training set and test set AUC values.



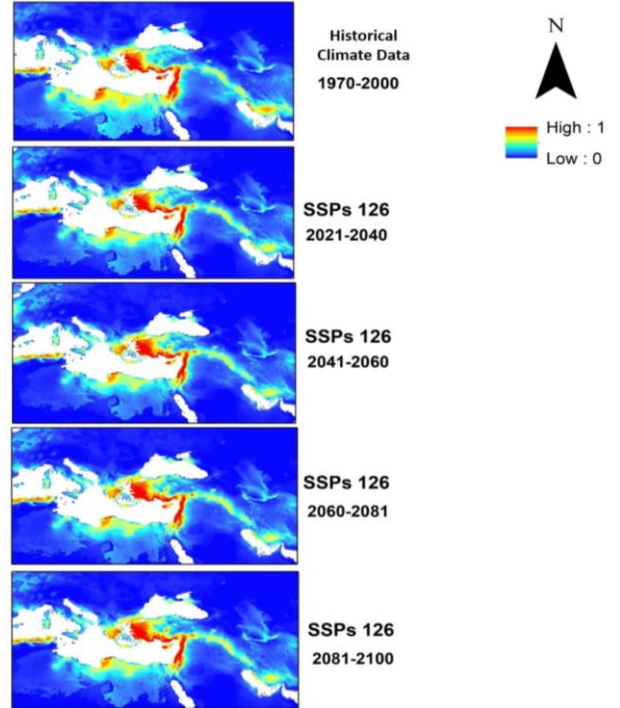
Şekil 2. Ortalama ve tahmin edilen ihmal oranları.
Figure 2. Average and predicted rates of neglect.



Şekil 3. Jackknife analizi sonuçları.
Figure 3. Jackknife analysis Results.

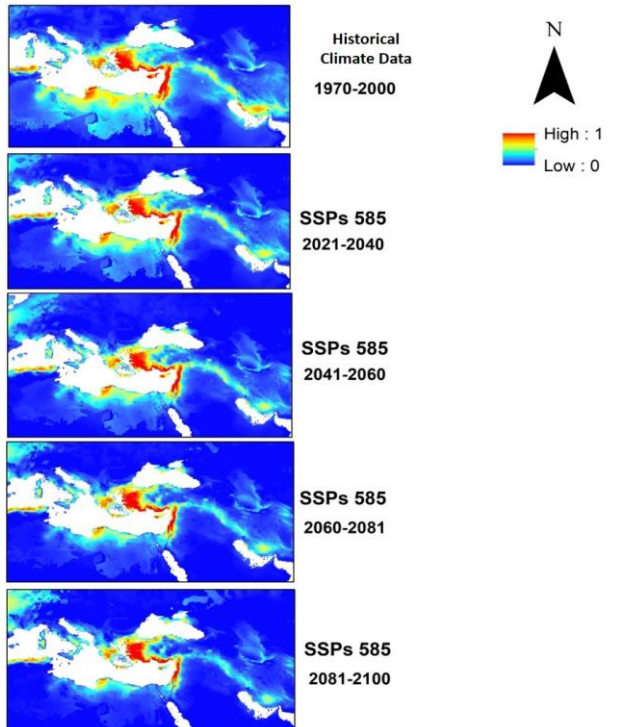
Maskeli örümcek kuşunun iklim örüntü modelinde elde edilen yakın geçmiş haritası incelendiğinde; Kuzey Afrika, Arap Yarımadasının Akdeniz'deki kıyıları, Basra Körfezi doğu kıyıları, Anadolu'da Akdeniz ve Ege Bölgeleri, Kıbrıs ve Yunanistan hedef türümüz için uygun iklim koşullarını sağlamaktadır (Şekil 4, 5). Gelecek iklim değişimi senaryolarından en iyimser olan SSPs126 için elde edilen harita incelendiğinde, 1,5 °C' lik sıcaklık artışının 2021-2100 süreci içerisinde maskeli örümcek kuşu habitatlarına pek zarar vermediği görülmektedir (Şekil 4). En kötümser iklim senaryosu olan SSPs585 incelendiğinde; 2021' den 2100' e kadar maskeli örümcek kuşunun Kuzey Afrika'daki ve Basra Körfezi'ndeki habitatlarını kaybedeceği öngörülmüştür (Şekil 5). Bu kötümser senaryoya göre maskeli örümcek kuşu için uygun habitatların Anadolu'da artış göstereceği tahmin edilmektedir. Anadolu'nun Akdeniz ve Ege bölgeleri

maskeli örümcek kuşunun gelecekte en önemli habitatı olabilir. Fakat kötümser senaryodaki Kıbrıs' da yer alan dağılım incelendiğinde; özellikle Kuzey Kıbrıs' da uygun habitatların yüzyılın sonunda kaybolacağı tahmin edilmektedir (Şekil 5).



Şekil 4. Maskeli örümcek kuşunun yakın geçmişte ve SSPs126 iklim değişim senaryosundaki dağılım haritası.

Figure 4. Distribution map of the masked spider bird in the recent past and in the SSPs126 climate change scenario.



Şekil 5. Maskeli örümcek kuşunun yakın geçmişte ve SSPs585 iklim değişim senaryosundaki dağılım haritası.

Figure 5. Distribution map of the masked spider bird in the recent past and in the SSPs585 climate change scenario.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Tür dağılım modellerinin bir alt kümesi olan iklim örüntü modelleri, türlerin iklim değişikliği etkisi altındaki habitatlarının gelecek durumlarını tahmin etmek için oldukça önemlidir. Çünkü bu modeller iklim değişikliği projeksiyonlarını ekolojik sonuçlara dönüştürmenin en etkili yoludur (Hijmans vd., 2005; Nogués-Bravo, 2009; Wiens vd., 2009). İklim değişikliği, canlılar ve ekosistem için yeni bir kavram değildir. Günümüz florası ve faunasının, paleoklimatolojik olaylar sonucunda oluştuğu bilinmektedir (Sandel vd., 2011). Paleoklimatolojik olaylardan tecrübe edinilen bilgiler, gelecek iklim değişikliği ile mücadele kapsamında kullanılabilir (Boyer vd., 2016; Carnaval vd., 2009; Loarie vd., 2016; Keppel vd., 2012; Sandel vd., 2011). Tecrübe edilen en önemli bilgi ve kavram refüj (sığınak) kavramıdır (Keppel vd., 2012). Refüj, olumsuz iklim koşulları esnasında uygun iklim koşullarını destekleyen, türlerin ve habitatlarının ayakta kalmasını sağlayan, gerektiğinde daralabilen ve gerektiğinde tekrar genişleyebilen, iklim değişiminden en az etkilenen veya iklimin değişmediği alanlardır (Byrne, 2008; Dobrowski, 2011; Keppel vd., 2012). Sandel (2011)'e göre, dünya üzerinde paleoklimatolojik olaylardan bu yana iklim değişim hızı oldukça düşük olan alanlar mevcuttur. Bu refüj alanların geçmişte olduğu gibi gelecekte iklim değişikliği sırasında da aynı görevi üstlenip üstlenemeyeceği merak konusu olmaktadır. Örneğin, Avrupa için türlerin devamı için kritik olan bu sığınak alanlarından birisi, Akdeniz havzasıdır (Birks & Willis, 2008).

Çalışma sonuçlarında önceki dönem iklim değişim senaryoları ve farklı canlı grupları ile yapılan çalışmalarda gibi habitat kayıpları öngörülmüştür (Evangelista vd., 2011; Evcin vd., 2019; Kıraç & Mert, 2019; Özdemir vd., 2020b). Fakat özellikle Türkiye'de iklim değişikliği sonucu bazı türler için uygun alanların artacağına dair sonuçlar veren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin Süel, (2019)' a göre, yüzyılın ortasından itibaren sonlara doğru iklim değişikliği simülasyonları sonuçları *Ciconia ciconia* için uygun alanların Türkiye'nin Trakya bölgesinde artacağı yönündedir.

Yakın geçmişe ait elde edilen model haritası incelendiğinde maskeli örümcek kuşunun dağılımının büyük oranda literatür ile örtüştüğü görülmektedir. Fakat bilinen dağılım dışında, yakın geçmiş modelinde maskeli örümcek kuşunun bugüne kadar hiç üremediği Kuzey-Doğu Afrika'ya doğru Bingazi kıyıları ve Atlas Dağları kıyısında iklimsel olarak potansiyel uygun alanlar görülmektedir. Bu yeni veya aykırı olarak görülen, iklimsel olarak uygun potansiyel alanların tümünde, türün bulunma ve dağılım gösterme zorunluluğu yoktur. Daha doğrusu tür dağılım modellerinde ve iklim örüntü modellerinde mevcut

ve gelecek için oluşturulan tüm modellerde bir türün bütün potansiyel alanları doldurmadığı gerçeğe kıyaslandığında ortaya çıkmaktadır (Şekil 4, 5).

Maskeli örümcek kuşu habitatlarının, en kötü şartları temsil eden SSPs585 iklim değişikliği senaryosu etkisi altında yüzyılın sonunda Kuzey Afrika'da ve Basra Körfezinde ortadan kalkacağı bu çalışma sonucunda öngörülmektedir (Şekil 5). Bununla birlikte maskeli örümcek kuşu, kış aylarında Kuzey Afrika'ya olan göçleri durdurup, kuzeyde kalıcı bir tür haline gelebilir. Bu durum eğer diğer göçmen kuşlar için de aynı şekilde gerçekleşirse, yerleşik kuşlar özellikle kış aylarında bu durumdan besin rekabeti açısından olumsuz etkilenebileceği düşünülmektedir (Rodenhouse vd., 2008). Tabi ki şimdilik bu öngörüler birer tahmin olmaktan öte değildir. Bu tahminlerin gerçekleşip gerçekleşmeyeceği kuşların göç, mola ve üreme alanları arasındaki hareketleri ve bu hareketlerin süreleri ve bu değişimlerin gözlenmesi sonucu ortaya çıkabilecektir (Meier vd., 2020; Karaardıç & Erdoğan, 2019). Bu çalışmadan çıkan diğer önemli bir sonuç, Akdeniz havzasındaki iklim koşullarının en kötü şartlarda bile ayakta kalacağıdır. Maskeli örümcek kuşunun dağılımını sınırlayan iklim koşullarının, SSPs585 iklim değişikliği senaryosu etkisi altında yüzyılın sonuna doğru İsrail, Suriye, Türkiye ve Yunanistan'ın Akdeniz havzasına dahil olan bölgelerinde ayakta kalacağı öngörülmektedir (Şekil 5). Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, geçmişte paleoklimatolojik olaylar sırasında sığınak görevi gören, yerel iklimleri ayakta tutan, biyolojik çeşitliliği koruyan ve dünya üzerinde iklim değişikliğinden en az etkilenen refüjlerin (Byrne, 2008; Dobrowski, 2011; Keppel vd., 2012), gelecekte de iklim değişikliği karşısında aynı görevi üstlenip üstlenemeyeceği sorusuna yanıt vermektedir. Refüj olarak kabul edilen Akdeniz havzasının doğusunda, özellikle Anadolu'nun Ege ve Akdeniz bölgelerinin tıpkı geçmişteki paleoklimatolojik olaylar sırasında olduğu gibi gelecek iklim değişikliğinde de refüj görevi göreceği beklenmektedir.

Bu sonuçlara farklı bir bakış açısı ile bakıldığında, tek bir türün iklim örüntü modeli sonucuna dayanarak rejüj alandan bahsetmenin eksiklikler barındırdığı veya maskeli örümcek kuşunun iklimsel hassasiyetinin düşük olabileceği gibi eleştirileri beraberinde getirebilir. Bu hususta bu tür çalışmaların artması ve sonuçların karşılaştırılması önem arz etmektedir. Aynı zamanda modeli oluşturulan hedef türün habitatının ve biyolojisinin iyi bir şekilde model sonuçlarını desteklemesi gerekmektedir. Türlerin doğrudan olmasa da dolaylı yoldan iklim tercihleri bulunabilir. Yani örtü, mekân, su ve besinden oluşan habitat ortamı iklim etkisi altındadır. Rodenhouse vd., (2008)' e göre maskeli örümcek kuşu gibi göçmen kuşlar habitat kalitesine oldukça önem vermektedir. Maskeli örümcek kuşu, diğer örümcek

kuşlarının aksine habitat olarak zeytinlik alanları tercih etmektedir (Moskat & Fuisz, 2002). Maskeli örümcek kuşu iklim örüntü modeli haritaları ile zeytin ağacının Akdeniz havzasındaki dağılımının örtüşmesi (Oteros, 2014) ve ayrıca Girit Adası'nda 6000 yıllık zeytin ağaçlarının varlığı (Göğüş vd., 2009) maskeli örümcek kuşu için öngörülen iklimsel dağılımın ve ekolojik sonuçların geçerliliğini ortaya koyabilmektedir.

Son olarak, elde edilen model sonuçları gerçekleşirse ülkemizde büyük yüz ölçümüne sahip olduğu öngörülen refüj alanlarının varlığı, yüzyılın sonunda Türkiye'nin, Avrupa, Ortadoğu ve Yakın Asya'ya göre ekolojik ve biyolojik çeşitlilik açısından daha güçlü olacağı anlamına gelebilmektedir. Bu tür çalışmaların ülkemizde artması, elde edilen sonuçların iklim politikalarına ve koruma planlarına dahil edilmesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Adams-Hosking, C., Grantham, H.S., Rhodes, J.R., McAlpine, C. & Moss, P.T. (2011).** Modelling climate-change-induced shifts in the distribution of the koala. *Wildlife Research*, *38*(2), 122-130. DOI: [10.1071/WR10156](https://doi.org/10.1071/WR10156)
- Alerstam, T., Hedenstrom, A. & Akesson, S. (2003).** Long-distance migration: evolution and determinants. *Oikos*, *103*, 247-260. DOI: [10.1034/j.1600-0706.2003.12559.x](https://doi.org/10.1034/j.1600-0706.2003.12559.x)
- Baldwin, R.A. (2009).** Use of maximum entropy modeling in wildlife research. *Entropy*, *11*(4), 854-866.
- Berthold, P., Helbig, A.J., Mohr, G. & Querner, U. (1992).** Rapid microevolution of migratory behaviour in a wild bird species. *Nature*, *360*, 668-670.
- BirdLife International, (2019).** *Lanius nubicus* (amended version of 2016 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T22705099A155574857.
- Birks, H.J.B. & Willis, K.J. (2008).** Alpines, trees, and refugia in Europe. *Plant Ecology & Diversity*, *1*(2), 147-160. DOI: [10.1080/17550870802349146](https://doi.org/10.1080/17550870802349146)
- Boyer, S.L., Markle, T.M., Baker, C.M., Luxbacher, A.M. & Kozak, K.H. (2016).** Historical refugia have shaped biogeographical patterns of species richness and phylogenetic diversity in mite harvestmen (Arachnida, Opiliones, Cyphophthalmi) endemic to the Australian Wet Tropics. *Journal of Biogeography*, *43*(7), 1400-1411. DOI: [10.1111/jbi.12717](https://doi.org/10.1111/jbi.12717)
- Byrne, M. (2008).** Evidence for multiple refugia at different time scales during Pleistocene climatic oscillations in southern Australia inferred from phylogeography. *Quaternary Science Reviews*, *27*(27-28), 2576-2585. DOI: [10.1016/j.quascirev.2008.08.032](https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.08.032)
- Carbonbrief, (2019).** CMIP6: the next generation of climate models explained. [Online]. Available: <https://www.carbonbrief.org/cmip6-the-next-generation-of-climate-models-explained>. [Accessed Dec. 28, 2019].
- Carnaval, A.C., Hickerson, M.J., Haddad, C.F., Rodrigues, M.T. & Moritz, C. (2009).** Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, *323*(5915), 785-789.
- Chown, D. (2003).** The Turkestan Shrike in Somerset. *Birding World*, *16*(6), 244-247.
- Dobrowski, S.Z. (2011).** A climatic basis for microrefugia: the influence of terrain on climate. *Global change biology*, *17*(2), 1022-1035. DOI: [10.1111/j.1365-2486.2010.02263.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02263.x)
- Doswald, N., Willis, S.G., Collingham, Y.C., Pain, D.J., Green, R.E. & Huntley, B. (2009).** Potential impacts of climatic change on the breeding and nonbreeding ranges and migration distance of European Sylvia warblers. *Journal of Biogeography*, *36*, 1194-1208. DOI: [10.1111/j.1365-2699.2009.02086.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2009.02086.x)
- Eaton, M.A., Noble, D.G., Hearn, R.D., Grice, P.V., Gregory, R.D., Wotton, S., Ratcliffe, N., Hilton, G.M., Rehfish, M.M., Crick, H.Q.P. & Hughes, J. (2005).** *The state of the UK's birds*. BTO, RSPB, WWT, CCW, EN, EHS, SNH, Sandy, Bedfordshire.
- Elith, J., Phillips, S.J., Hastie, T., Dudik, M., Chee, Y.E. & Yates, C.J. (2011).** A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and distributions*, *17*(1), 43-57. DOI: [10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x](https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x)
- Evangelista, P.H., Kumar, S., Stohlgren, T.J. & Young, N.E. (2011).** Assessing forest vulnerability and the potential distribution of pine beetles under current and future climate scenarios in the Interior West of the US. *Forest Ecology and Management*, *262*(3), 307-316. DOI: [10.1016/j.foreco.2011.03.036](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.03.036)
- Evcin, O., Kucuk, O. & Akturk, E. (2019).** Habitat suitability model with maximum entropy approach for European roe deer (*Capreolus capreolus*) in the Black Sea Region. *Environmental monitoring and assessment*, *191*(11), 1-13. DOI: [10.1007/s10661-019-7853-x](https://doi.org/10.1007/s10661-019-7853-x)
- Fordham, D.A., Watts, M.J., Delean, S., Brook, B.W., Heard, L.M. & Bull, C.M. (2012).** Managed relocation as an adaptation strategy for mitigating climate change threats to the persistence of an endangered lizard. *Global change biology*, *18*(9), 2743-2755. DOI: [10.1111/j.13652486.2012.02742.x](https://doi.org/10.1111/j.13652486.2012.02742.x)
- Gaiji, S., Chavan, V., Ariño, A.H., Otegui, J., Hobern, D., Sood, R. & Robles, E. (2013).** Content assessment of the primary biodiversity data published through GBIF network: status, challenges and potentials. *Biodiversity Informatics*, *8*(2). DOI: [10.17161/bi.v8i2.4124](https://doi.org/10.17161/bi.v8i2.4124)
- Göğüş, F., Özkaya, M.T. & Ötleş, S. (2009).** *Zeytinyağı*. Eflatun Yayınevi, Ankara, 187s.
- Gregory, J.M., Willis, S.G., Juiget, F., Vorisek, P., Klvanova, A., Van Strien, A., Huntley, B., Collingham, Y.C., Covet, D. & Green, R.E. (2009).** An indicator of the impact of climatic

- change on European bird populations. *PLoS ONE*, 4(3), e4678. DOI: [10.1371/journal.pone.0004678](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004678)
- Gregory, R.D., Van Strien, A., Vorisek, P., Meyling, A.W.G., Noble, D.G., Foppen, R.P.B. & Gibbons, D.W. (2005). Developing indicators for European birds. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 360, 269-288.
- Hijmans, R.J. & Graham, C.H. (2006). The ability of climate envelope models to predict the effect of climate change on species distributions. *Global Change Biology*, 12(12), 2272-2281. DOI: [10.1111/j.1365-2486.2006.01256.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01256.x)
- Hijmans, R.J., Cameron, S.E., Parra, J.L., Jones, P.G. & Jarvis, A. (2005). Very high-resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology: A Journal of the Royal Meteorological Society*, 25(15), 1965-1978.
- Karaardıç, H. & Erdoğan, A. (2019). Spring migration phenology of wheatear species in Southern Turkey. *Acta Biologica Turcica*, 32(2), 65-69.
- Keppel, G., Van Niel, K.P., Wardell-Johnson, G.W., Yates, C.J., Byrne, M., Mucina, L. & Franklin, S.E. (2012). Refugia: identifying and understanding safe havens for biodiversity under climate change. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 393-404. DOI: [10.1111/j.1466-8238.2011.00686.x](https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00686.x)
- King, D. (2005). Climate change: the science and the policy. *Journal of Applied Ecology*, 42, 779-783.
- Kıraç, A. & Mert, A. (2019). Will Danford's Lizard Become Extinct in the Future? *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(3), 1741-1748.
- Loarie, S.R., Carter, B.E., Hayhoe, K., McMahon, S., Moe, R., Knight, C.A. & Ackerly, D. (2008). Climate change and the future of California's endemic flora. *PloS one*, 3(6), e2502. DOI: [10.1371/journal.pone.0002502](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002502)
- Meier, C.M., Karaardıç, H., Aymí, R., Peev, S.G., Witvliet, W. & Liechti, F. (2020). Population specific adjustment of the annual cycle in a super swift trans Saharan migrant. *Journal of Avian Biology*, 51(11). DOI: [10.1111/jav.02515](https://doi.org/10.1111/jav.02515)
- Møller, A.P., Fiedler, W. & Berthold, P. (2010). *Effects of climate change on birds*. OUP Oxford.
- Moskat, C. & Fuisz, T.I. (2002). Habitat segregation among the woodchat shrike, *Lanius senator*, the red-backed shrike, *Lanius collurio*, and the masked shrike, *Lanius nubicus*, in NE Greece. *Folia Zoologica-Praha*, 51(2), 103-112.
- Nogués-Bravo, D. (2009). Predicting the past distribution of species climatic niches. *Global Ecology and Biogeography*, 18, 521-531. DOI: [10.1111/j.1466-8238.2009.00476.x](https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2009.00476.x)
- Oteros, J. (2014). *Modelización del ciclo fenológico reproductor del olivo* (PDF). (Tesis Doctoral) (in Spanish), Córdoba, España: Universidad de Córdoba.
- Özdemir, S., Özkan, K., Ahmet, M. (2020a). Ekolojik bakış açısı ile iklim değişimi senaryoları. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 13(3), 361-371.
- Özdemir, S., Gülsoy, S., & Ahmet, M. (2020b). Predicting the effect of climate change on the potential distribution of Crimean juniper. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 20(2), 133-142.
- Parmesan, C. & Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421(6918), 37.
- Pereira, H.M., Leadley, P.W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J.P., Fernandez-Manjarrés, J.F., Araújo, M.B., Balvanera, P., Biggs, R., Cheung, W.W. & Chini, L. (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. *Science* 330(6010), 1496-1501.
- Perktaş, U. (2004). Breeding shrike populations in Turkey: status in 1998-2003. *Biological Letters*, 41(2), 7175.
- Phillips, S.J.; Anderson, R.P. & Schapire, R.E. (2006). Maximum entropy modelling of species, geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190(3-4), 231-259. DOI: [10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026](https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026)
- Rodenhouse, N.L., Matthews, S.N., McFarland, K.P., Lambert, J.D., Iverson, L.R., Prasad, A. & Holmes, R.T. (2008). Potential effects of climate change on birds of the Northeast. *Mitigation and adaptation strategies for global change*, 13(5), 517-540.
- Sandel, B., Arge, L., Dalsgaard, B., Davies, R.G., Gaston, K.J., Sutherland, W.J. & Svenning, J.C. (2011). The influence of Late Quaternary climate-change velocity on species endemism. *Science*, 334(6056), 660-664.
- Sinervo, B., Lara Reséndiz, R.A., Miles, D.B., Lovich, J.E., Ennen, J.R., Müller, J. & Sites Jr, J.W. (2017). Climate Change and Collapsing Thermal Niches of Mexican Endemic Reptiles. <https://escholarship.org/uc/item/4xk077hp>
- Süel H., Özkan K. & Oğurlu İ. (2018). Mapping habitat suitability of game animals in sütçüler district, Isparta. *ICONST 2018 International Conference on Science and Technology*, Eylül 5-9, Prizren, 135-135.
- Süel, H. (2019). Türkiye'de leylek (*Ciconia ciconia* Linnaeus, 1758) dağılımının iklim değişikliğine göre kestirimi. *Türkiye Ormancılık Dergisi*, 20(3), 243-249.
- Wiens, J.A., Stralberg, D., Jongsomjit, D., Howell, C.A., & Snyder, M.A. (2009). Niches, models, and climate change: assessing the assumptions and uncertainties. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(Supplement 2), 19729-19736. DOI: [10.1073/pnas.0901639106](https://doi.org/10.1073/pnas.0901639106)
- Wilkins, M.R., Karaardıç, H., Vortman, Y., Parchman, T.L., Albrecht, T., Petrželková, A. & Safran, R.J. (2016). Phenotypic differentiation is associated with divergent sexual selection among closely related barn swallow populations. *Journal of Evolutionary Biology*, 29(12), 2410-2421. DOI: [10.1111/jeb.12965](https://doi.org/10.1111/jeb.12965)



Havza ve Arazi Karakteristiklerinin Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Yardımıyla Değerlendirilmesi: Pazar Hemşin Deresi Havzası Örneği

Ali Erdem ÖZÇELİK¹ Turan YÜKSEK^{1*} Filiz YÜKSEK² Bülent VEREP³

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Peyzaj Mimarlığı Bölümü, Rize, Türkiye

²Tarım ve Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Doğu Karadeniz Ormanlık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Trabzon, Türkiye

³Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Bölümü, Rize, Türkiye

Geliş/Received: 11.04.2021

Kabul/Accepted: 03.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atf yapmak için: Özçelik, A.E., Yüksek, T., Yüksek, F. & Verep, B. (2021). Havza ve Arazi Karakteristiklerinin Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) Yardımıyla Değerlendirilmesi: Pazar Hemşin Deresi Havzası Örneği. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 252-260.

How to cite: Özçelik, A.E., Yüksek, T., Yüksek, F. & Verep, B. (2021). Evaluation of Basin and Land Characteristics using Geographic Information Systems (GIS): The Case of Pazar Hemşin Creek. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 252-260.

id: <https://orcid.org/0000-0001-5877-1738>

*id: <https://orcid.org/0000-0003-2964-1760>

id: <https://orcid.org/0000-0003-3275-642X>

id: <https://orcid.org/0000-0003-4238-8325>

*Sorumlu yazarın:

Turan YÜKSEK

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi,
Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Peyzaj
Mimarlığı Bölümü, Rize, Türkiye

✉: turan.yuksekk@erdogan.edu.tr

Öz: Doğal kaynaklar sürekli etkileşim halinde olan ekosistemlerdir. Bu ekosistemlerin planlanması bütünlük havza planlama ilkelerine göre yapılmalıdır. Ancak Rize il ölçeğindeki doğal kaynak planlama ve altyapı çalışmalarında bu hususun layıkıyla dikkate alındığı pek söylenemez. Bu çalışmanın amacı Pazar Hemşin havzası bazı havza karakteristikleri ile arazilerin yükselti kademeleri, eğim, bakı ve jeolojik yapıya göre dağılımlarının Coğrafi Bilgi Sistemi yardımıyla ortaya konulmasıdır. Araştırma sonucuna göre araştırma alanı 21216 hektar ve ortalama eğimi % 30,97'dir. Yükselti kademelerine göre en geniş arazi varlığı 4153,35 hektar (%19,58) ile 901-1200 m yükselti arasında ve en az arazi varlığı 633,26 hektar (% 2,98) ile 2100-2400 m yükselti arasında olduğu belirlenmiştir. Eğim ve bakı faktörlerine göre arazilerin % 63,14'ü gölgeli bakılar üzerinde ve % 36,86'sı güneşli bakılar üzerindedir. Eğime göre en geniş ziraat alanı % 38,35 ile % 11-20 eğim gurubunda yer almaktadır. Orman arazilerinin % 30,44'ü asidik kayalar, % 69,43'ü nötr kayalar ve % 0,13 ile alüvyon alanlar üzerindedir. Kayalık türlerine göre en geniş orman varlığı % 30,33 ile granit kayalar üzerindedir. Yerleşim yerlerinin % 44,55'i asidik kayalar, % 54,37'si nötr kayalar ve % 1,08'i ile alüvyon alanlar üzerindedir. Mevcut yerleşim yerlerinin % 63,99'u gölgeli bakılar üzerinde, % 36,01'i güneşli bakılar üzerindedir. Havza genelinde yerleşim yeri kullanımlarında gölgeli bakılar baskın durumdadır. Yerleşim yerlerinin seçimi, yol ve alt yapı çalışmaları ile tarım arazilerinin kullanılmasında yukarıda ortaya konulan havza özelliklerinin dikkate alınması hem sorunların çözülmesi hem de sürdürülebilir havza yönetimi için faydalı olabilir.

Anahtar kelimeler: Bakı, coğrafi bilgi sistemleri, eğim, jeolojik yapı, yükselti kademesi.

Evaluation of Basin and Land Characteristics using Geographic Information Systems (GIS): The Case of Pazar Hemşin Creek

Abstract: Natural resources are ecosystems in constant interaction. Planning of these ecosystems should be done according to integrated watershed management principles. However, it cannot be said that this issue is taken into account in natural resource planning and infrastructure works in Rize. The aim of this study is to determine some basin characteristics of Pazar Hemsin basin and the distribution of lands according to elevation, slope, aspect and geological structure using of Geographical Information System. As a result of the study, the drainage area of the study area is 21216 hectares and its average slope is 30.97%. According to the elevation steps, it was determined that the largest land was 4153.35 hectares (19.58%) in 901-1200 m elevation steps, while the least amount of land was 633.26 hectares (2.98%) in 2100-2400 m elevation steps. According to the slope and aspect factors, 63.14% of the lands are on shady views and 36.86% are on sunny views. According to the slope, the largest agricultural area (38.35%) is in the slope group of 11-20%. 30.44% of forest lands are on acidic rocks, while 69.43% on neutral rocks and 0.13% on alluvium areas. According to the rock types, the largest forest area is on granite rocks with 30.33%. 44.55% of the settlements are on acidic rocks, while 54.37% on neutral rocks and 1.08% on alluvium areas. 63.99% of the settlements are on shady views, while 36.01% are on sunny views. Shaded views are dominant in the choice of settlement. Take into basin characteristics in the selection of settlements, road and infrastructure works and the use of agricultural lands may be beneficial for both solving problems and sustainable basin management in Pazar Hemşin River Basin.

*Corresponding author's:

Turan YÜKSEK

Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of
Engineering & Architecture, Department of
Landscape Architecture, Rize, Turkey

✉: turan.yuksekk@erdogan.edu.tr

Keywords: Aspect, elevation steps, geographical information systems, geological structure, slope.

GİRİŞ

Hızlı sanayileşme ve teknolojik gelişmeler insanlığın hayatındaki işlerin daha kolay ve daha hızlı bir şekilde yapılmasına imkan verirken; endüstriyel faaliyetler ve artan tüketimler sonucunda çevre ve doğal kaynaklar üzerinde çok ciddi baskılar oluşmaya devam etmektedir. Dünya genelinde (Anonim, 2017; Shen ve Hwang, 2019) ve ülkemizde (Eroğlu vd., 2019; Yazıcı vd., 2019) meydana gelen küresel iklim değişimi ve afetlerin yıllar itibariyle artmaya devam etmesi insanın çevre üzerindeki olumsuz etkilerinin artarak devam ettiğinin açık bir kanıtı olarak kabul edilebilir.

Dünya coğrafyasında münferit halde havzalar olduğu gibi; bir havza içerisinde birden çok alt havzaların olduğu farklı büyüklük ve şekillerde havzalarda mevcuttur. Havzalar, insanların her türlü çalışmalarını yürüttüğü doğal ve dinamik sistemlerdir (Yüksek vd., 2019). Havzalar hem doğal süreçlere hem de insan faaliyetlerine karşı açık sistemler olduğu için sürekli değişime uğramaktadır. Havzalardaki değişim ve gelişimler bazen havzaların ekolojik dengesine katkı sağlarken; çoğunlukla havzalardaki ekolojik dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Havzaların sahip olduğu karakteristik özelliklerinin bilinmemesi veya doğru bir şekilde algılanmaması, aynı havza içerisinde olan kentsel ve kırsal alanların birbirlerinden bağımsız bir şekilde ele alınarak planlanması havzalardaki sorunların daha karmaşık bir hale gelmesine neden olmaktadır. Havza içerisinde yukarıdan aşağıya doğru uygulanması gereken dere ıslah, sel ve taşkın projelerinin havzanın çıkış (mansap) noktasına yakın alanlarda uygulanması, mansap bölümündeki dere yatağının daraltılması, arazi yetenek sınıfları, arazinin eğimi, toprağın heyelan duyarlılığı dikkate alınmadan arazi kullanım şekillerinin veya yol planlamalarının yapılması ve bunun gibi hususlar planlamacıların havzaları ve havza karakteristik özelliklerinin doğru bir şekilde algılamadıklarına örnek olarak verilebilir.

Dünya genelinde olduğu gibi ülkemizdeki artan nüfusun taleplerinin karşılanmasında çevre ve doğal kaynakların doğru bir şekilde planlanması ve yönetimi oldukça önemli bir konudur. Kentsel ve kırsal alandaki tüm çevresel faktörlerin doğru biçimde algılanabilmesi ve koruma-kullanma dengesine uygun (Yüksek vd., 2008) bir şekilde kullanılabilmesi ancak entegre havza planlama ve yönetim modelinin (Yüksek, 2004) uygulanması ile mümkündür. Havza sınırlarının belirlenmesi, havzaların çeşitli havza karakteristik özellikleri yanı sıra arazi kullanım şekilleri, sosyo-ekonomik yapı, tarihi ve kültürel varlıkların belirlenmesi entegre havza planlama ve yönetim modelinin doğru bir şekilde oluşturulabilmesi için oldukça önemlidir.

Ülkemizdeki farklı havzaların sahip olduğu havza karakteristiklerinin belirlenmesi ile alakalı direkt veya indirekt olarak yapılmış çalışmalar (Akkaya Aslan vd.,

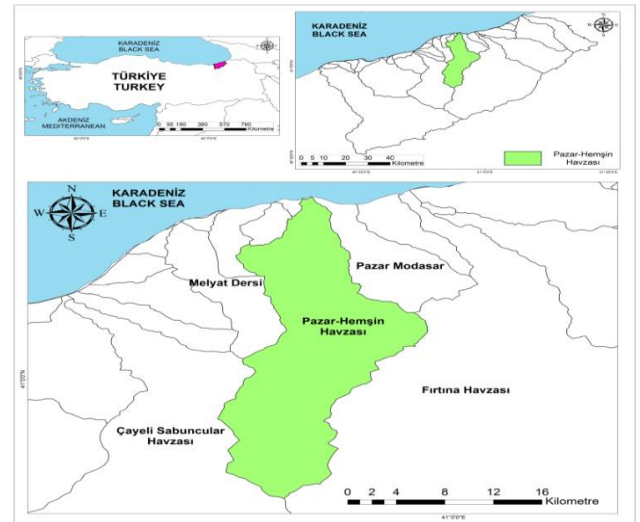
2004; Göl & Dengiz, 2007; Dengiz & Göl, 2008; Yüksel vd., 2008; Elibüyük & Yılmaz, 2010; Yılmaz vd., 2011; Dindaroğlu vd., 2012; Bağdatlı & Öztürk, 2014; Taş, 2016; Reis vd., 2016; Göl vd., 2017; Reis vd., 2017a; Reis vd., 2017b; Yüksel vd., 2018; Reis & Dindaroğlu, 2018; Yüksek vd., 2019; Bilgili vd., 2020; Reis & Dindaroğlu, 2020; Dural & Reis, 2020; Yazıcı ve İnan, 2020; Yüksek vd., 2020) olmakta birlikte; ülkemiz genelindeki havza sayıları dikkate alındığında konuyla alakalı yapılmış olan çalışmaların yetersiz olduğu ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle havza karakteristikleri ve havzalardaki arazilerin fizyografik özelliklere göre dağılımlarının ortaya konulması, başarılı entegre havza yönetim planlarının oluşturulması için oldukça gereklidir. Bu çalışmanın araştırma hipotezi: Tüm akarsu havzalarının havza karakteristikleri aynıdır ve arazilerin dağılımında fizyografik özelliklerin etkisi yoktur.

Bu araştırmanın amacı Pazar-Hemşin deresi havzasının havza karakteristikleri ve arazilerin bazı fizyografik özelliklere göre dağılımlarının coğrafi bilgi sistemleri ile tespit edilmesidir.

MATERYAL VE METOT

Araştırma Sahası Coğrafi Konumu ve Bazı İklim

Özellikleri: Pazar Hemşin Deresi yağış havzası (Şekil 1), Rize iline ortalama 38 km uzaklıkta, 40 52 44 - 41 11 21 kuzey enlemleri ile 40 45 26-41 02 04 doğu boylamları arasında yer almaktadır (Yüksek, 2001).



Şekil 1. Pazar Hemşin Deresi havzası coğrafi (konumsal) gösterimi.

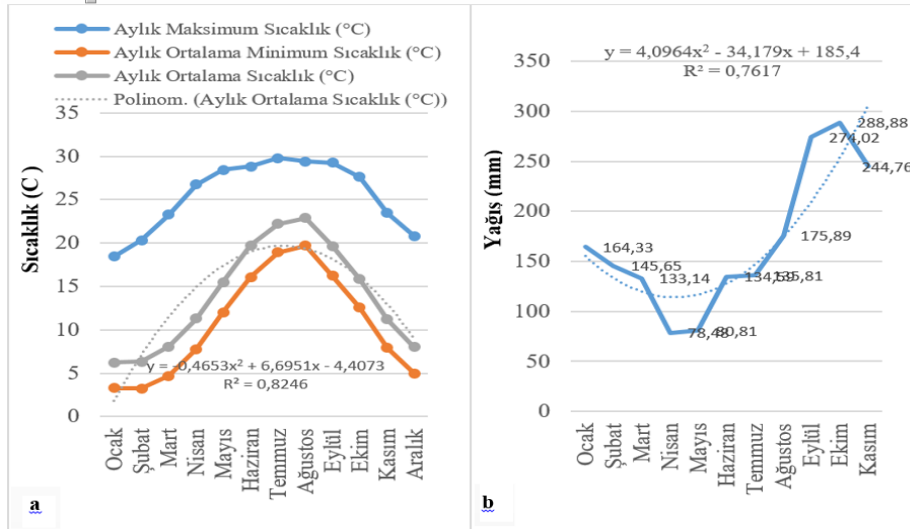
Figure 1. The geographical (spatial) representation of the Pazar Hemşin Creek basin.

Pazar Hemşin Deresi Havzası deniz seviyesinden itibaren güneye doğru 2400 m yükseltiye kadar erişmektedir. Yağış havzası iklim verilerinin yorumlanmasında Pazar istasyonu 1990-2019 yıllarına ait verilerden yararlanılmıştır.

Araştırma alanında yıllık ortalama maksimum sıcaklık 25,55 °C, ortalama sıcaklık 13,91°C ve ortalama minimum sıcaklık 5,94 °C'dir. Ortalama en düşük minimum sıcaklık Şubat (-1,89 °C), ve ortalama en sıcak ayı ağustostur (22,88 °C) (Şekil 2a).

Yağışın zaman bağlı değişimi $y = 4,0964x^2 - 34,179x + 185,4$, $R^2 = 0,7617$ şeklinde ve polinomvari bir ilişki içindedir (Şekil 2b). Pazar Hemşin deresi havzasındaki aylık toplam yağış ocak ayından nisan ayına kadar doğrusal bir şekilde azalmakta, daha sonra ekim ayına kadar artmakta

ve sonra tekrar azalmaktadır (Şekil 2b). Yıl içinde en yağışlı ay 288 mm ile ekim, en az yağışın olduğu ay 78 mm ile nisan'dır (Yüksek vd., 2020). Yıl içinde Rize genelinde olduğu gibi biri az yağışlı (ilkbahar), diğeri çok yağışlı (yaz, sonbahar ve kış) yağış rejimi hakimdir (Yüksek, 2001). Thornthwaite yöntemine göre Pazar Hemşin havzasının iklim tipi (A B'1 r a') rumuzu ile ifade edilen çok nemli, orta sıcaklıkta (mezotermal), su noksanı olmayan veya pek az olan denizel iklim özelliklerine sahiptir (Yüksek, 2017).



Şekil 2. Pazar Meteoroloji İstasyonu Sıcaklık (a) ve yağış (b) değerlerinin aylık değişimi (Gözlem dönemi: 1990-2019).

Figure 2. Monthly variation of temperature (a) and precipitation (b) of Pazar Meteorology Station (Observation period: 1990-2019).

Havza veri setinin oluşturulması ve havza karakteristiklerinin belirlenmesi: Coğrafi Bilgi Sistemleri kullanılarak oluşturulan veri seti ve havza karakteristik özelliklerinin belirlenmesinde kullanılan formüller yardımıyla Pazar Hemşin Deresi Havza karakteristik özellikleri hesaplanmıştır (Yüksek vd., 2019; Yüksek vd., 2020) (Tablo 1). Bu amaçla Pazar Hemşin deresi yağış havzasının sınırları ArcGIS 10.5 programı yardımıyla çizildikten sonra arazi karakteristiklerinin belirlenmesi ve tanımlanmasına yönelik veri setleri oluşturulmuştur. Havza genelinde veri setleri raster ve vektör veri yapısında olmak üzere iki alt grupta oluşturulmuştur. Buna ilaveten Pazar-Hemşin havzası arazi karakteristiklerinin belirlenmesi kapsamında Coğrafi Bilgi Sistemleri (CBS) kullanılarak konumsal veri altyapısı oluşturulmuştur. Uygulama kapsamında CBS yazılımı olan ArcGIS 10.5 programı kullanılarak veri setlerine dayalı alt bileşen veri gruplarının sınıflandırılması uygulaması gerçekleştirilmiştir. Sınıflandırma uygulamasında yükselti, eğim, bakı, jeoloji ve orman amenajmanı veri setleri kullanılmıştır.

BULGULAR

Pazar Hemşin deresinin drenaj alanı 21600 hektar olup, yükselti kademelerine göre en geniş arazi varlığı

Tablo 1. Pazar Hemşin Deresi Havza karakteristik özelliklerinin hesaplanmasında kullanılan yöntemler (Özhan, 2004; Yüksek vd., 2019, Yüksek vd., 2020).

Table 1. Methods used to calculate the watershed characteristics of Pazar Hemşin Creek Basin (Özhan, 2004; Yüksek vd., 2019, Yüksek vd., 2020).

Havza Karakteristikleri	Hesaplama Yöntemi	Sembollerin Açıklaması
Havza Form Faktörü	$F = \frac{A}{L^2}$	F: Form faktörü, A: Havza Alanı (Km ²), L: Havza uzunluğu (km),
Havzanın Şekil Faktörü	$F = \frac{L^2}{A}$	Rc: Dairesellik Oranı
Havzanın Dairesellik Oranı (Rc)	$Rc = \frac{4\pi A}{P^2}$	P: Havzanın çevresi (km)
Havzanın Eğimi (Sg)	$Sg = 1.571 \frac{DKN}{\Sigma L}$	ΣL: Eğri uzunluklarının toplamı (m)
Maksimum Reliyef (H)	$H = X - Y$	H: Havzanın maksimum reliyefi
Oransal Reliyef (Rho)	$Rho = \frac{H}{P}$	X: Havzanın en yüksek noktası (m), Y: Havzanın en düşük noktası (m)
Havzanın Ortalama Yükseltisi (Ho)	$Hy = \frac{a1b1 + a2b2 + \dots + anbn}{A}$	a: İki eşyükselti arasındaki alan (ha), h: İki eşyükselti eğrisi arasındaki yükselti (m)

4153,35 hektar (% 19,58) ile 901-1200 m yükselti arasında ve en az arazi varlığı 633,26 hektar (% 2,98) ile 2100-2400 m yükselti arasında olduğu belirlenmiştir (Tablo 2, Şekil

3a). Arazi varlığının % 50,74'ü 900 metrenin altındadır. 0-900 m yükseltilere arasındaki arazilerin yükselti basamaklarına göre dağılımı düzensiz seyrederken; 900 metre yükselti kademesinden sonra yükselti basamaklarına göre arazilerin dağılımı doğrusal biçimde azalmaktadır (Tablo 2).

Bakıya göre en geniş arazi varlığı 3759,35 hektar (% 17,72) ile kuzeybatı bakıda, en az arazi varlığı 966,17 hektar (% 4,55) ile güney bakıdadır. Havza genelindeki

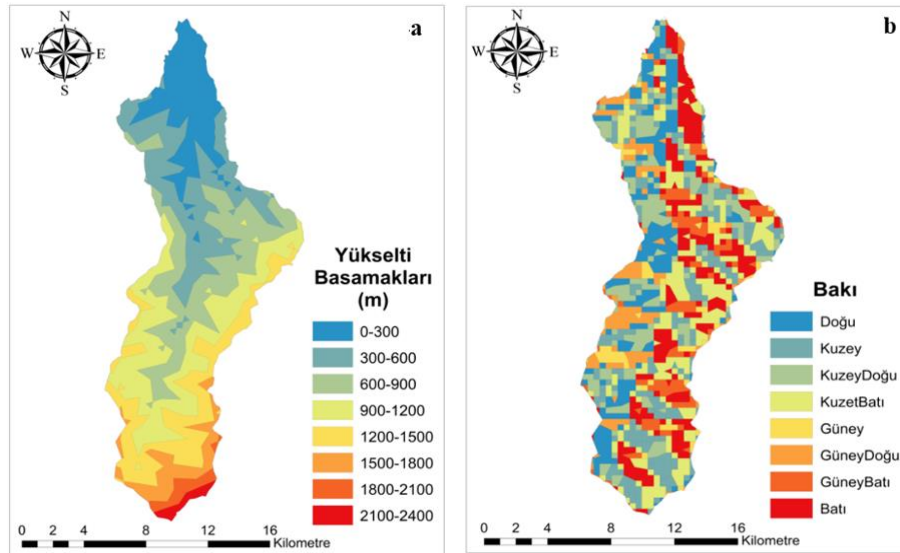
arazilerin % 62,98'i gölgeli bakılar üzerinde ve % 37,02'si güneşli bakılar üzerinde olup, arazi varlığının dağılımında gölgeli bakılar baskın durumdadır (Tablo 2, Şekil 3b). Doğu ve batı bakıda en geniş arazi varlığı 0-300m yükselti kademesinde, güney ve güneybatı bakıda en geniş arazi varlığı 1200-1500 m yükselti kademesinde iken; kuzey, kuzeydoğu, kuzeybatı ve güneydoğu bakılarda en geniş arazi varlığı 900-1200 m yükselti kademesindedir (Tablo 2).

Tablo 2. Pazar Hemşin Deresi Havzasındaki arazi varlığının (ha) bakı ve yükselti kademelerine göre değişimi.

Table 2. Change of lands (ha) in Pazar Hemşin Creek Basin according to aspect and elevation.

Bakı	Yükselti Gurubu (m)								Toplam
	0-300	301-600	601-900	901-1200	1201-1500	1501-1800	1801-2100	2100-2400	
D	977,5	593,98	446,37	537,78	165,00	184,4	205,98	81,51	3.192,51
K	236,86	385,73	619,13	794,33	366,19	447,96	361,49	122,99	3.334,66
KD	480,48	776,13	555,54	540,22	164,65	134,05	397,48	26,33	3.074,85
KB	464,14	644,05	735,44	772,37	305,62	425,81	239,86	172,03	3.759,35
G	130,46	93,04	125,73	187,08	229,45	84,84	59,62	55,96	966,17
GD	243,54	311,21	182,47	520,81	246,13	56,49	54,42	51,82	1.666,88
GB	189,8	332,33	338,16	241,83	358,78	119,66	46,02	48,38	1.674,95
B	859,19	585,31	459,13	558,94	619,51	328,67	61,66	74,25	3.546,63
Toplam	3.581,96	3.721,77	3.461,96	4.153,35	2.455,32	1.781,87	1.426,52	633,26	21.216,00
Alan (%)	16,88	17,54	16,32	19,58	11,57	8,4	6,72	2,98	100

D: Doğu, K: Kuzey, KB: Kuzeybatı, G: Güney, GD: Güneydoğu, GB: Güneybatı, B: Batı



Şekil 3. Pazar Hemşin Deresi Havzası yükselti basamakları (a) ve bakıya göre (b) arazilerin dağılımı.

Figure 3. Distribution of the lands in Pazar Hemşin Creek Basin according to the elevation steps (a) and the aspect (b).

Pazar Hemşin havzasının ortalama eğimi % 30,97'dir. Eğim ve bakıya göre en geniş arazi varlığı 3751,09 hektar (% 17,68) ile kuzeybatı bakıda, en az arazi varlığı 1657,27 hektar (% 7,81) ile güneydoğu bakıdadır (Tablo 3, Şekil 4a). Eğim ve bakı faktörlerine göre arazilerin % 63,14'ü gölgeli bakılar üzerinde ve % 36,86'sı güneşli bakılar üzerindedir (Tablo 3).

Eğim gurupları ve yükselti basamaklarına göre en geniş arazi varlığı % 25,89 ile % 21-30 eğim gurubunda yer almaktadır. Yükselti basamaklarına göre % 0-10 eğim gurubundaki arazi varlığı toplam arazi varlığının %10,05'i kadardır (Tablo 4), 0-10 eğim gurubundaki arazilerin % 52,98'i 0-300 m yükseltileri arasındadır.

Orman arazilerin jeolojik yapıya göre

dağılımlarında ilginç bir durum vardır. Orman arazilerinin % 30,44'ü asidik kayalar, % 69,43'ü nötr kayalar ve % 0,13 ile alüvyon alanlar üzerindedir (Şekil 4b ve 5). Kayaç türlerine göre en geniş orman varlığı % 30,33 ile granit kayalar üzerindedir.

Tarım arazilerinin % 12,02'si asidik kayalar, % 83,13'ü'ü nötr kayalar ve % 4,85'i ile alüvyon alanlar üzerindedir (Şekil 4b ve 5). Yerleşim yerlerinin % 44,55'i asidik kayalar, % 54,37'si nötr kayalar ve % 1,08'i ile alüvyon alanlar üzerindedir (Şekil 4b ve 5).

Havza içerisinde en fazla ormanlık alan % 14,8 ile kuzeybatı bakıda, en az orman varlığı ise % 3,51 ile güney bakıdadır. Orman arazi varlığının % 63,76'sı gölgeli bakıda, % 36,24'ü ise güneşli bakılar üzerindedir (Şekil 6).

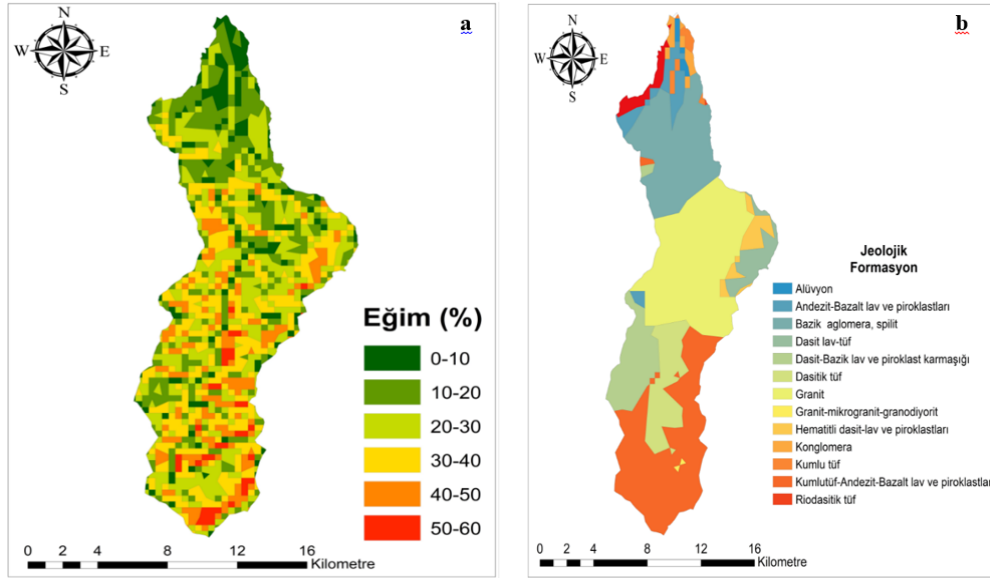
Tablo 3. Eğim guruplarına göre bakıldaki arazi varlığı (ha).**Table 3.** Lands in aspects by slope groups (ha).

Eğim (%)	D	K	KD	KB	G	GD	GB	B	Toplam
0-10	335,90	167,96	325,35	259,59	181,43	142,31	224,97	406,02	2.043,52
11_20	951,76	640,77	773,54	748,92	170,31	417,28	216,99	950,36	4.869,92
21_30	962,93	925,69	919,90	1.198,96	244,21	378,34	490,14	941,60	6.061,77
31_40	679,05	941,33	707,44	761,31	213,36	482,66	445,49	765,50	4.996,13
41_50	302,82	485,38	321,60	535,36	123,62	216,66	219,25	325,74	2.530,42
51-60	18,80	165,31	18,80	246,95	33,24	20,02	69,99	141,13	714,23
Alan (ha)	3.251,26	3.326,44	3.066,63	3.751,09	966,17	1.657,27	1.666,83	3.530,35	21.216,00
Alan (%)	15,32	15,68	14,45	17,68	4,55	7,81	7,86	16,64	100,00

D: Doğu, K: Kuzey, KB: Kuzeybatı, G: Güney, GD: Güneydoğu, GB: Güneybatı, B: Batı

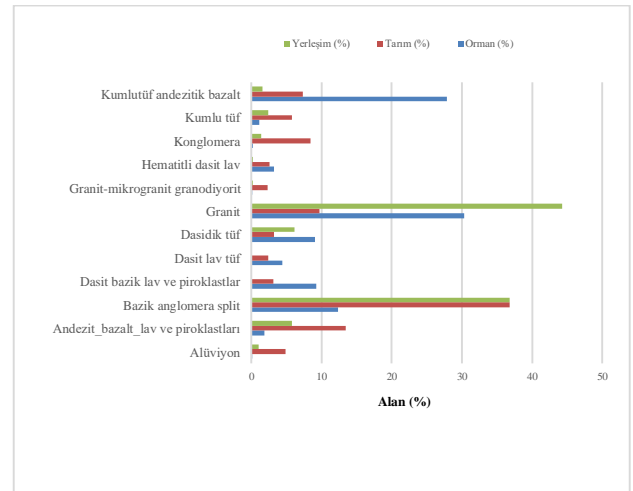
Tablo 4. Eğim guruplarına (%) göre yükselti basamaklarındaki arazi varlığı (ha).**Table 4.** Land presence (ha) at elevation steps according to slope levels (%).

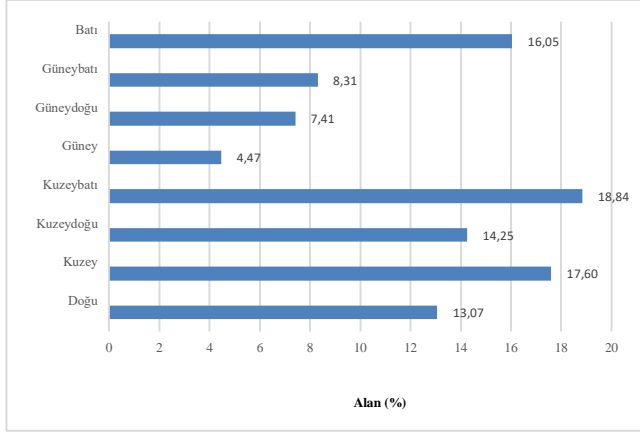
Eğim (%)	Yükselti Kademeleri (m)								Toplam Alan (ha)	Alan (%)
	0-300	301-600	601-900	901-1200	1201-1500	1501-1800	1801-2100	2101-2400		
0_10	1.129,33	333,83	174,6	129,99	124	145,5	86,33	7,7	2.131,28	10,05
11_20	1.650,50	1.139,40	675,84	722,59	309,16	259,64	128,13	58,06	4.943,32	23,30
21_30	736,67	1.254,70	1.180,70	950,65	765,56	330,9	133,4	139,8	5.492,38	25,89
31_40	55,95	784,3	1.018,34	1.362,07	655,8	620,25	287,4	88,5	4.872,61	22,97
41_50	9,51	209,53	370,65	857,42	470,8	310,98	403,26	118,31	2.750,46	12,96
51_60	0	0	41,83	130,63	130	114,6	388	220,89	1.025,95	4,84
Toplam	3.581,96	3.721,77	3.461,96	4.153,35	2.455,32	1.781,87	1.426,52	633,26	21.216,01	100

**Şekil 4:** Pazar Hemşin Havzasındaki arazilerin eğim gurupları (4a) ve jeolojik formasyonlara (4b) göre dağılımları.**Figure 4:** Distribution of the lands in the Pazar Hemsin Basin according to slope groups (4a) and Geological Formations (4b).

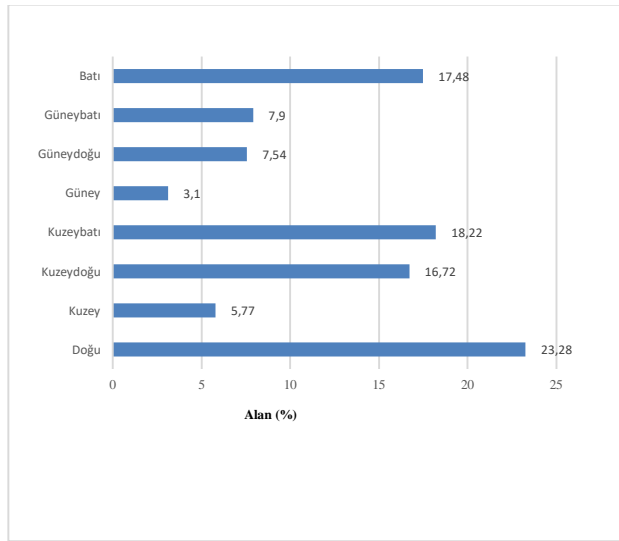
Havza genelinde yerleşim yeri kullanımlarında gölgeli bakılar baskın durumdadır. Mevcut yerleşim yerlerinin % 63,99'u gölgeli bakılar üzerinde, % 36,01'i güneşli bakılar üzerindedir. Havza içerisinde en geniş yerleşim yeri % 23,28 ile doğu bakıda, en az yerleşim yeri % 3,1 ile güney bakıdadır (Şekil 7).

Eğime göre yerleşim alanlarının oransal değeri önce artmakta, daha sonra tekrar azalmaktadır. En geniş yerleşim alanı % 11-20 eğim gurubunda, en düşük yerleşim alanı % 0,08 ile % 51-60 eğim gurubundadır. Yerleşim alanları ile eğim gurupları arasında $R^2 = 0,831$ ve $y = -2,1523x^2 + 9,6437x + 15,559$ şeklinde polinomvari bir ilişki belirlenmiştir (Şekil 7). Eğime göre en geniş ziraat alanı % 38,35 ile % 11-20 eğim gurubunda yer almaktadır. Tarım arazilerinin % 58,95'i %11-30 eğim gurubunda yer almaktadır (Şekil 8). Tarım arazilerinin eğime göre dağılımları $R^2 = 0,695$ ile $y = -0,5675x^2 - 1,8389x + 31,71$ şeklinde ve polinomvari bir ilişkiye sahiptir (Şekil 8).

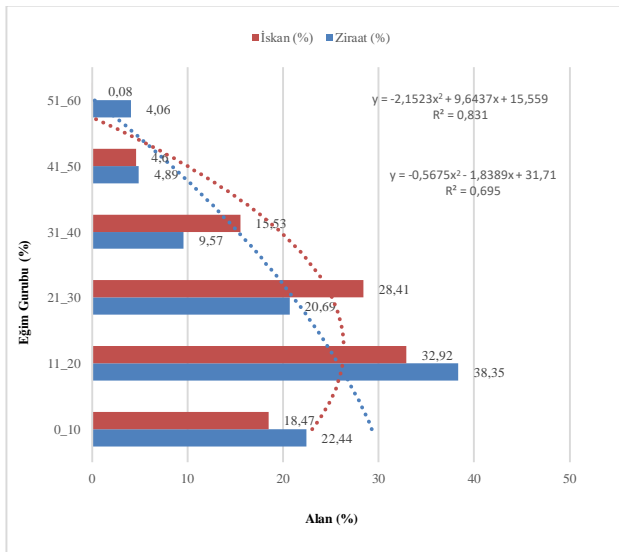
**Şekil 5.** Orman, Tarım ve İskan alanlarının kayaç guruplarına göre dağılımları.**Figure 5.** Distribution of Forest, Agriculture and Residential areas by rock groups.



Şekil 6. Orman arazilerinin (ha) bakılara göre dağılımı.
Figure 6. Distribution of forest lands (ha) by aspect.



Şekil 7. Yerleşim yerlerinin (%) bakılara göre dağılımı.
Figure 7. Distribution of residential area (%) by aspect.



Şekil 8. Ziraat ve yerleşim alanlarının eğime göre dağılımı.
Figure 8. Distribution of agricultural and residential areas by slope (%).

TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Ülkemiz genelinde en geniş arazi varlığı (toplam arazilerin %18'i) 1000-1250 metre yükselteleri arasında ve Karadeniz bölgesindeki arazilerin %16'sı 1000-1200 metre yükselteleri yer alırken (Elibüyük & Yılmaz, 2010); Pazar Hemşin deresi havzasında en geniş arazi varlığı ülkemiz ve Karadeniz bölgesi ortalamalarına kıyasla daha alt yükselti kademesinde (900-1200 m) yer almaktadır. Yine Rize ilindeki farklı havzalarda arazilerin geniş alanlarda yayıldığı yükselti kademeleri birbirinden farklıdır. Çağlayan havzasında en geniş arazi %13,54 ile 2401-2700m yükselti basamağında (Yüksek vd., 2019), Fırtına havzası fırtına kolunda %16,75 ile 2700-3000m yükselti basamağında ve Fırtına havzası Durak alt havzasında %12,02 ile 600-900 m yükselteleri arasında yer almaktadır (Yüksek vd., 2020). Arazilerin sahip olduğu bu farklı özellikler Pazar Hemşin deresi havzasındaki arazi kullanım şekillerinin planlamasının bazı özellikleri itibariyle yerel, bölgesel hatta ulusal düzeydeki arazi kullanım planlamalarından farklı olabilir. Bununla birlikte Pazar Hemşin Havzasında bakıya göre arazilerin dağılımı Rize ilindeki Çağlayan ve Fırtına havzaları ile benzer özelliktedir. Bu havzalarda yapılacak doğal kaynak planlamalarında ve mevcut planların yönetim şekillerinde bakı faktörü benzer şekilde dikkate alınabilir. Türkiye ortalama eğiminin %17,3 ve Karadeniz bölgesinin ortalama eğiminin %26 olduğu dikkate alındığında (Elibüyük & Yılmaz, 2010) Pazar Hemşin havzasının ortalama eğimi Türkiye ortalamasından 1,79, Karadeniz bölgesi eğim ortalamasından 1,19 katı daha yüksek bir eğime sahiptir. Bu nedenle doğal kaynakların sürdürülebilir planlanmasında eğim faktörü hem tek başına hem de diğer faktörler ile birlikte ele alınmalıdır. Pazar Hemşin havzası Karadeniz bölgesinin doğu kesimine (% 34,8) (Elibüyük & Yılmaz, 2010) kıyasla daha düşük bir ortalama eğime sahiptir. Pazar Hemşin havzasında toplam arazinin %60,07'si %0-30 eğim yer almaktadır. Karadeniz bölgesi genelinde en geniş arazi %45,5 ile %20-50, Doğu Karadeniz'de ise en fazla arazi %51,03 ile %20-50 eğim gurubunda yer almaktadır (Elibüyük & Yılmaz, 2010). İlgili değerlerden görüleceği üzere Pazar Hemşin havzasındaki araziler Karadeniz bölgesi ortalamalarına ve Rize ilindeki iki büyük havzaya (Fırtına ve Çağlayan) göre daha az eğime sahiptir. Bu nedenle Pazar Hemşin havzasındaki arazi planlaması ve yönetiminde havza karakteristiklerinin Türkiye geneline göre daha hassas, Karadeniz bölgesi ve komşu havzalara kıyasla daha esnek olabilir. Ancak Pazar Hemşin havzasında doğal kaynakların (arazi kullanımı, yerleşim yeri seçimi, yol yapım çalışmaları, kentsel ve kırsal alan alt yapı çalışmaları, dere ıslahı ve sel-taşkın kontrol çalışmaları vb) sürdürülebilir planlanmasında eğim faktörünün doğru bir

şekilde dikkate alındığı pek söylenemez. Yine eğim faktörünün yağış akış üzerindeki etkileri yeterince dikkate alınmadığı için havza genelinde sık aralıklarla sel, taşkın ve heyelan olayları meydana gelmektedir. 1973-2010 yılları arasında Pazar Hemşin deresi yağış havzasının da içinde olduğu Rize ili havzalarında 5 adet sel-taşkın olayında 48 kişi hayatını kaybetmiş ve milyonlarca liralık maddi hasar meydana gelmiştir (Yüksek, 2011). Karadeniz bölgesinin Doğu Karadeniz bölümünde olduğu gibi Pazar Hemşin havzası genelinde de I.+II.+III. Sınıf tarımsal arazi varlığı fazla değildir. Bu nedenle mecbur kalınmadıkça bu arazilerin tarımsal faaliyetler dışında kullanılmaması ve tarım dışı kullanımı konusunda ciddi kısıtlamalar getirilmesi son derece önemlidir. Küresel iklim değişiminin etkilerinin güçlü bir şekilde hissedildiği Rize ilinde benzer afetlerin yaşanmaması için planlamalarda eğim faktörü ve etkilerinin daha hassas bir şekilde dikkate alınmasının çok faydalı olacağı söylenebilir.

Tarım arazileri farklı tip kayaçlar, farklı yükselti ve eğim kademeleri ve bakılar üzerinde yer almaktadır. Tarım arazilerinin büyük çoğunluğunun %10-30 eğim gurubunda yer alması arazi yetenek sınıflarının göz ardı edildiğinin açık bir kanıtıdır. Bir diğer önemli husus yüksek eğimli arazilerde arazi yetenek sınıflarının dikkate alınmadan tarım yapılması erozyon ve heyelan riskini daha da artırmaktadır. Havza genelinde meydana gelen heyelan olaylarının en çok tarım arazilerinde (çay ve mısır vb) meydana gelmesi bunun en açık kanıtıdır. Havzadaki tarım arazileri farklı agro-ekolojik zonlar üzerindedir. Bu nedenlerde tarım arazilerinin planlamasında ve yönetiminde farklı özellikleri içerisinde barındıran bu agro-ekolojik zonların dikkate alınması gerekir. Böylece bir yandan tarım arazilerinden en yüksek miktar ve kalitede ürün elde edilirken; diğer yandan tarım arazilerinin sürdürülebilirliği güvence altına alınabilir.

Orman toplumlarının sürdürülebilir planlama ve yönetimlerinde kayaç guruplarının dikkate alınması gerekir. Çünkü kayaç guruplarının değişmesi toprak türü ve yapısının farklı olmasına neden olabilmektedir. Toprak türünün farklı olması ağaç türü seçiminde dikkate alınması gereken bir durumdur. Orman arazilerinin dağılımında gölgeli bakılar hakim durumdadır. Orman alanlarında ağaç türü seçimi, işletme şekli, idare süresi, toprak ve su koruma, vb çalışmalarının doğru bir şekilde planlanmasında bakı faktörü hassas bir şekilde dikkate alınmalıdır. Çünkü bakı faktörünün değişmesi ile birlikte yetişme ortamı özellikleri (toprak özellikleri, iklim özellikleri, vb) önemli ölçüde değişmektedir (Çepel, 1978). Bakı faktörünün hem münferit hem de diğer faktörler ile birlikte dikkate alınması, sürdürülebilir ormancılığın ve sürdürülebilir arazi kullanımlarının güvence altına alınması için çok faydalı olabilir. Bunun sonucunda hem araştırma havzasında hem de Rize ve çevresindeki küresel

iklim değişiminin olumsuz etkileri azaltılabilir.

Pazar Hemşin Havzası Türkiye'nin en yağışlı havzalarından biridir. Yerleşim yerlerinde bakı faktörünün doğru bir şekilde dikkate alınmaması, havza içerisinde drenaj sorunu yaşanmasına ve planlama çalışmalarında yağış-akış ilişkisinin hatalı algılanmasına neden olmaktadır. Bütün bunların sonucunda havza genelinde çok ciddi sel, taşkın ve heyelan olayları meydana gelmektedir. Bu hususun hatalı algılanması, gelecekte çok daha şiddetli afetlerin havza içerisinde yaşanmasının olası olduğu görüşünü daha da kuvvetlendirmektedir. Yerleşim yerlerinin seçiminde eğim ve bakı faktörlerinin doğru bir şekilde dikkate alınmaması mesken ve işyerlerindeki ısıtma ve soğutma giderlerinin de artmasına, nihayetinde ülkemiz enerji maliyetlerinin yükselmesine neden olmaktadır. Mesken ve iş yerlerinin oluşturulmasında bakı ve eğim faktörlerinin dikkate alınmamasının bir diğer önemli sonucu mekanların görsel kalitelerinin düşmesi ve yaşam ortamındaki sağlık koşullarının bozulmasıdır. Pazar Hemşin Havzası bol yağışlı olup yüksek oranda yağış akış değerine sahiptir. Bu nedenle yerleşim yeri planlama ve alt yapı ve iyileştirme çalışmalarında kayaç türleri mutlaka dikkate alınmalıdır. Doğal ortama ait jeomorfoloji (Boyras & Budak, 2017), tarihi ve sosyal şartlar (Yalçınlar, 1967), yükselti, eğim, bakı (Şahin & Kaya, 2011), iklim (sıcaklık, nem, rüzgar, vb) (Gedikli, 2018) su, tarım arazisi, yol unsurları yerleşme yerlerinin seçimi ve konumlandırılmasında belirleyici rol oynadığı pek çok araştırmacı (Karagel & Karagel, 2010; Atasoy & Özşahin, 2013; Esen & Avcı, 2017) tarafından belirtilmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma kapsamında Rize İline ait ihtiyaç duyulan bazı coğrafi verilerin temini yönünde katkı sunan Karadeniz Teknik Üniversitesi Coğrafi Bilgi Sistemleri Laboratuvarı (KTÜ-GIS Lab) ekibine teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Akkaya Aslan, Ş.T., Gündoğdu, K.S. & Demir, A.O. (2004).** Sayısal Yükseklik Modelinden Yararlanılarak Bazı Havza Karakteristiklerinin Belirlenmesi: Bursa Karacabey İnkaya Göleti Havzası Örneği. *Ulud. Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 18(1), 167-180.
- Anonim. (2017).** <https://www.munichre.com/en/risks/natural-disasters-losses-are-trending-upwards.html#-1624621007> (21 Aralık 2020).
- Atasoy, A. & Özşahin, E. (2013).** Yükseltiye Bağlı Olarak Nüfus Değişir mi? Hatay Örneği. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 6(26), 92-108.

- Bağdatlı, C. & Öztürk, B. (2014).** Havza Morfolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Coğrafi Bilgi Sistemlerinin (CBS) Etkin Rolü. *SAÜ Fen Bil. Der.*, *18*(1), 11-19.
- Boyraz, Z. & Budak, E. (2017).** Doğal Afetlerin Ayvalı (Darende / Malatya) Yerleşmesi Üzerindeki Etkileri. *ZfWT*, *9*(3), 7-23.
- Çepel, N. (1978).** *Orman Ekolojisi*. İ.Ü. Orman Fakültesi Yayın No: 257, İstanbul, 534s.
- Dengiz, O. & Göl, C. (2008).** Effects of physiographic factors and some soil hydro-physical soil properties on river follow in Uludere Catchment. *Water Observation and Information System For Decision Support, (BALWOIS)*, Ohrid. Republic of Macedonia, 47-48.
- Dindaroğlu, T., Özgül, M. & Canpolat, M.Y. (2012).** Sayısal Yükseklik Modeli Kullanılarak Bazı Havza Karakteristiklerinin Saptanması ve Arazi Kullanımı. *KSÜ Mühendislik Bilimleri Dergisi Özel Sayı*, 197-205.
- Dutal, H. & Reis, M., (2020).** Determining the effects of land use on soil erodibility in the Mediterranean Highland Regions of Turkey: A case study of the Korsulu Stream Watershed. *Environ Monit Assess*, *192*, 1-15. DOI: [10.1007/s10661-020-8155-z](https://doi.org/10.1007/s10661-020-8155-z)
- Elibüyük, M. & Yılmaz, E. (2010).** Türkiye'nin Coğrafi Bölge ve Bölümlerine Göre Yükselti Basamakları ve Eğim Grupları. *Coğrafi Bilimler Dergisi*, *8*(1), 27-55.
- Eroğlu, H., Çetin, S., Erkan, M.A., Çamalan, G., Güser, Y., Odabaşı, E. & Soydam, M. (2019).** 2019 Yılı Meteorolojik Afetler Değerlendirmesi, Tarım ve Orman Bakanlığı, Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara. <https://www.mgm.gov.tr/FILES/genel/kitaplar/2019MeteorolojikAfetlerDeğerlendirmesi.pdf>. (Erişim: 14 Ocak, 2021).
- Esen, F. & Avcı, V. (2017).** Tunceli İli'nde Topoğrafik Faktörlere Göre (Yükselti, Eğim, Bakı) yerleşmelerin ve nüfusun dağılışı. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, *10*(51), 376-389. DOI: [10.17719/jisr.2017.1774](https://doi.org/10.17719/jisr.2017.1774)
- Gedikli, B. (2018).** Approaches to Climate Change in Spatial Planning and Design: International and Turkish Experiences. *METU JFA*, *35*(1), 89-109. DOI: [10.4305/METU.JFA.2018.1.9](https://doi.org/10.4305/METU.JFA.2018.1.9)
- Göl, C. & Dengiz, O. (2007).** Çankırı-Eldivan Karataşbağı Deresi Havza Arazi Kullanım-Arazi Örtüsündeki Değişim ve Toprak Özellikleri. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, *22*(1), 86-97.
- Göl, C., Ediş, S. & Yılmaz, H. (2017).** Legal and Administrative Problems in Watershed Management in Turkey: Case of Tatlıçay Watershed. *Environmental Engineering and Management Journal*, *16*(12), 2685-2698. DOI: [10.30638/eemj.2017.279](https://doi.org/10.30638/eemj.2017.279)
- Karagel, H. & Karagel, D.Ü. (2010).** Devrek ilçesinde yerleşmelerin kuruluş yeri seçiminde etkili olan coğrafi faktörler. *E-Journal of New World Sciences Academy*, *5*(2), 4A0022, 76-97.
- Özhan, S. (2004).** *Havza Amenajmanı*. İ.Ü. Orman Fakültesi Yayın No: 481, İstanbul 385s.
- Reis, A. & Dindaroğlu, T. (2018).** Havza ölçeğinde bazı ekohidrolojik karakteristikler ile arazi kullanım ilişkilerinin araştırılması: Bertiz Çayı yağış havzası örneği. *Turkish Journal of Forest Science* *2*(1), 68-82. DOI: [10.32328/turkjforsci.413309](https://doi.org/10.32328/turkjforsci.413309)
- Reis, A. & Dindaroğlu, T. (2020).** Havzalarda Bazı Hidrolojik Karakteristiklerin Archdyro Yazılımı Kullanılarak Belirlenmesi. *Turkish Journal of Forest Science*, *4*(1), 146-159. DOI: [10.32328/turkjforsci.706568](https://doi.org/10.32328/turkjforsci.706568)
- Reis, M., Bolat, N., Dutal, H. & Abız, B. (2017b).** producing erosion risk map using remote sensing techniques and RUSLE method in Halfalı Stream Catchment of Kahramanmaraş. *Kastamonu Uni., Orman Fakültesi Dergisi*, *17*(1), 176-185.
- Reis, M., Dutal, H., Abız, B. & Bolat, N. (2016).** Kahramanmaraş ili Göksun ilçesi'nde arazi kullanımında meydana gelen zamansal değişimin uzaktan algılama teknikleri ve coğrafi bilgi sistemi ile belirlenmesi. *KSU Mühendislik Bilimleri Dergisi*, *19*(2), 35-41. DOI: [10.17780/ksujes.91496](https://doi.org/10.17780/ksujes.91496)
- Reis, M., Dutal, H., Bolat, N. & Savacı, G. (2017a).** Soil Erosion Risk Assessment Using GIS and ICONA: A Case Study in Kahramanmaraş, Turkey. *Journal of Agricultural Faculty of Gaziosmanpaşa University*, *34*(1), 64-75. DOI: [10.13002/jafag4208](https://doi.org/10.13002/jafag4208)
- Şahin, K. & Kaya, M. (2011).** Yerleşmeler üzerinde bakı faktörünün etkisi: Sinop şehri örneği. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, *4*(19), 379-387.
- Shen, G., & Hwang, S.N., (2019).** Spatial–Temporal Snapshots of Global Natural Disaster Impacts Revealed From EM-DAT for 1900-2015, *Geomatics, Natural Hazards and Risk*, *10*:1, 912-934. DOI: [10.1080/19475705.2018.1552630](https://doi.org/10.1080/19475705.2018.1552630)
- Taş, E. (2016).** Coğrafi bilgi sistemleri yardımıyla havza karakteristiklerinin belirlenmesi: Afyonkarahisar Çay deresi havzası. *International Academic Research Congress*, Antalya. Türkiye, 603-610.

- Yalçınlar, İ. (1967).** Türkiye’de bazı şehirlerin kuruluş ve gelişmesinde jeomorfolojik temeller. *İ.Ü. Coğrafya Enstitüsü Dergisi*, **16**, 53-66.
- Yazıcı, N., Babalık, A.A. & Dursun, İ. (2019).** Jeolojik Kökenli Doğal Afetler İçinde Heyelanların Yeri ve Önemi. *3. Uluslararası Bilimsel Çalışmalar Kongresi (UBCAK)*, Antalya, Türkiye, 231-238.
- Yazıcı, N. & İnan, B. (2020).** Determination of temporal change in land use by geographical information systems: The case of Çandır village of Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, **29**(05), 3579-3593.
- Yılmaz, H., Göl, C. & Ediş, S. (2011).** The importance of watershed characteristics in integrated watershed management (A case of Gökdere Watershed, TURKEY). *Fresenius Environmental Bulletin* **20**(12), 3126 - 3134.
- Yüksek, T. (2001).** Rize-Pazar Deresi Yağış Havzasında Farklı Arazi Kullanım Şekilleri Altındaki Toprakların Bazı Özellikleri İle Aşınım Eğilimi Değerlerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, Türkiye, 204s.
- Yüksek, T. (2004).** Türkiye’nin su kaynakları ve havza planlamasına dönük genel değerlendirmeler. *KAÜ Artvin Orman Fakültesi Dergisi*, **1**(2), 71-83.
- Yüksek, T. (2011).** Rize Yöresinde Yanlış Arazi Kullanımı ve Neden Olduğu Çevresel Sorunlar. Doğu Karadeniz Bölgesi Heyelan ve Taşkın Sempozyumu, Trabzon. <http://www.dsi.gov.tr/docs/sempozyumlar/1-4-rize-y%C3%B6resinde-yanl%C4%B1%C5%9F-arazi-kullan%C4%B1m%C4%B1-ve-neden-oldu%C4%9Fu-%C3%A7evresel-sorunlar---yrd-do%C3%A7-dr-turan-y%C3%BCksek.pdf?sfvrsn=2>.
- Yüksek, T. (2017).** Rize ili arazi kullanım durumu, bazı ormancılık çalışmaları ve yağışların zamansal dağılımının genel bir değerlendirilmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi* **2**(3), 59-66.
- Yüksek, T., Cengiz, T. & Yüksek, F. (2008).** Doğal alanlarda festival etkinliklerinin koruma-kullanma açısından değerlendirilmesi: Kafkasör Kültür, Sanat ve Turizm Festivali Örneği, *Ekoloji*, **17**(67), 37-45.
- Yüksek, T., Özçelik, A.E. & Verep, B. (2020).** Fırtına havzasının bazı havza karakteristikleri ile arazilerin fizyografik özelliklere göre dağılımlarının coğrafi bilgi sistemleri ile belirlenmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, **5**(3), 439-449. DOI: [10.35229/jaes.792606](https://doi.org/10.35229/jaes.792606)
- Yüksek, T., Özçelik, A.E. & Verep, B. (2019).** Çağlayan havzasının (Fındıklı-Rize) bazı havza karakteristiklerinin coğrafi bilgi sistemleri ile değerlendirilmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, **4**(3), 532-538. DOI: [10.35229/jaes.648366](https://doi.org/10.35229/jaes.648366)
- Yüksel, A., Demir, Y., Sürücü, A., Kolak, N. & Hopur, B. (2018).** Flood control studies and soil protection measures of the Han-El Ba’rur (Gök Deresi) Microcatchment on Tek Tek Mountains, Harran. *1. International GAP Agriculture & Livestock Congress*, Şanlıurfa, Türkiye, 1035-1040.
- Yüksel, A., Gündoğan, R. & Akay, A.E. (2008).** Using the remote sensing and GIS technology for erosion risk mapping of Kartalkaya Dam Watershed in Kahramanmaraş, Turkey. *Sensors*, **8**, 4851-4865. DOI: [10.3390/s8084851](https://doi.org/10.3390/s8084851)



Giresun Kıyı Şeridindeki *Patella* sp.'nin Et Kalitesi Değişiminin Mevsimsel Olarak Belirlenmesi [*]

Cengiz MUTLU^{1*}, Fulya Gaye ŞEN², Selin KALKAN³

¹Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun, Türkiye

³Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Giresun, Türkiye

Geliş/Received: 15.03.2021

Kabul/Accepted: 14.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atıf yapmak için: Mutlu, C., Şen, F.G. & Kalkan, S. (2021). Giresun Kıyı Şeridindeki *Patella* sp. nin Et Kalitesi Değişiminin Mevsimsel Olarak Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 261-265.

How to cite: Mutlu, C., Şen, F.G. & Kalkan, S. (2021). Determination of Seasonal Variation in the Meat Quality of *Patella* sp. from Giresun Region. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 261-265.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9741-4167>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-6882-3714>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-4142-3152>

***Sorumlu yazarın:**

Cengiz MUTLU
Giresun Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Çevre Mühendisliği Bölümü, Giresun,
Türkiye
✉: cengiz.mutlu@giresun.edu.tr

Öz: Patellalar dünyanın birçok bölgesinde insan gıdası olarak tüketilen canlılardır fakat literatür incelendiğinde, ekonomik olarak yeterince değerlendirilmeyen *Patella* sp. örneklerinin et kalitesi açısından değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, *Patella* sp. örneklerinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, Giresun ilinden üç farklı istasyondan (Sanayi, Eynesil, Piraziz) toplanan ve farklı mevsimlerde (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) analize alınan *Patella* sp. örneklerinin su aktivitesi değerleri 0,9909-0,9989, pH değerleri 6,87-7,76, kuru madde değerleri %16,68-27,76, kül değerleri %1,64-2,55 ve protein değerleri ise %3,65-15,40 olarak belirlenmiştir. Örneklerin mikrobiyolojik analizleri sonucunda, toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 7,98-8,96 log kob/g, koliform grup bakteri sayısının 1,15-2,38 log kob/g, *E.coli* sayı ortalamalarının 0,30-24,00 EMS/g, toplam psikrofil bakteri sayısının 1,35-2,66 log kob/g, ve maya-küf sayısının ise 5,09-6,76 log kob/g değerleri arasında olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *Patella* sp. örneklerinin et tüketimi açısından uygunluğunun değerlendirildiği çalışmamızda, örneklerin fizikokimyasal açıdan tüketime uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Fakat örnekler mikrobiyolojik olarak tüketim sınırları üzerinde değerlere sahiptirler ve bu değerler istasyonlar ile mevsimlere bağlı olarak da değişiklik göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Et kalitesi, fizikokimyasal özellikler, mikrobiyolojik özellikler, *Patella* sp.

Determination of Seasonal Variation in the Meat Quality of *Patella* sp. from Giresun Region

Abstract: *Patella* sp. are among the creatures consumed as human food in many parts of the world, but when the literature is examined, *Patella* sp. there is no study in which samples were evaluated in terms of meat quality. Therefore, in our study, it was aimed to investigate the physical, chemical and microbiological properties of the *Patella* sp. samples. According to the results of the study, the water activity (0.9909-0.9989), pH (6.87-7.76), dry matter (16.68-27.76%), ash (1.64-2.55%) and protein (3.65-15.40%) values of the *Patella* sp. samples, was collected from three different stations (Sanayi, Eynesil, Piraziz) from Giresun province and analyzed in different seasons (spring, summer, autumn, winter). As a result of the microbiological analysis of the samples, the total mesophilic aerobic bacteria values of the *Patella* sp. samples were found to be 7.98-8.96 log cfu/g. The coliform group bacteria number of the samples was determined as 1.15-2.38 log cfu/g. *E. coli* number averages of the samples are 0.30-24.00 EMS/g. Total psychrophil bacterial values, it is seen that they have values between 1.35-2.66 log cfu/g. *Patella* sp. has a value between 5.09-6.76 log cfu/g in terms of yeast-mold number. Consequently, in our study, the suitability of the *Patella* sp. samples in terms of meat consumption was evaluated and it was determined that the samples were suitable for consumption in terms of physicochemical. However, the samples have values above the consumption limits microbiologically and these values also vary depending on the stations and the seasons.

Keywords: Meat quality, microbiological properties, *Patella* sp., physicochemical properties.

[*] Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

This study was produced from a master's thesis.

GİRİŞ

Dünya nüfusunun artışı ile beraber, gıda ihtiyacının karşılanabilmesi için gıda üretimi de artmalıdır. İnsan beslenmesi açısından gıda kaynaklarının arasında su ürünlerinin önemi büyüktür. Su ürünleri protein içeriği bakımından zengindir. Yağda çözünen A, D, E, K vitaminler ile kalsiyum, iyot, fosfor gibi önemli mineralleri içermektedirler. Yapılarındaki doymamış yağ asitleri nedeniyle kandaki kolesterol seviyesini azaltması ve düşük kalori değerlerine sahip olmalarından dolayı, tüketiciler tarafından diyet gıdalar olarak da tercih edilmektedirler (Göğüş & Kolsarıcı, 1992). Balıkçılık dışında diğer avlanan deniz mahsullerinden (kum midyesi; akivades ve beyaz kum midyesi, deniz salyangozu, karidesler; tüm türler, midye; kara ve killi midye ve mürekkep balığı) toplam üretimde %73,75 oranıyla en yüksek paya Kum Midyesi sahiptir. Diğer en yüksek avlanan su ürünü ise %16 oranıyla deniz salyangozudur (TÜİK, 2020). Tüketime uygunluk açısından değerlendirildiğinde, midyeler yaşadıkları bölgeye göre çeşitli bakterileri barındırabilmektedirler. Av yapılan bölge midye kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir (Mol, 2006). Kaliteli midye üretimi için; suların güvenliğinin sağlanmasının ve suların güvenliğini izlemenin önemi ve midyelerin uygun şekilde işlenmediği zaman insan sağlığı açısından risk olan çok sayıda patojen mikroorganizma içerebileceği Kılınç vd., (2014) tarafından açıklanmıştır. Genel olarak su kaynaklarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kalitesi, evsel ve katı atıklardan birinci derecede etkilenmektedir. Özellikle Giresun il sınırları dahilinde su kaynaklarındaki fizikokimyasal değişim (Mutlu vd., 2018; Uncumusaoglu vd., 2016; Uncumusaoglu & Akkan, 2017), mikrobiyolojik değişim (Akkan & Çolaker, 2020; Akkan & Topkaraoğlu, 2019; Akkan vd., 2019) ve hatta tatlısu, deniz suyu ve balık örneklerinden izole edilen bakterilerde yüksek antibiyotik direnç profilinin rapor edildiği bilinmektedir (Akkan, 2017; Akkan & Mutlu, 2016; Sipahi vd., 2013). İlâveten, Polat & Akkan (2016) yapmış oldukları çalışmada Giresun kıyı şeridi deniz suyunda ağır metal ve anyonik deterjan kalıntısı tespit etmişlerdir.

Limpetler, dünya çapında kayalık kıyılardaki en iyi bilinen deniz otoburları arasındadır (Jenkins vd., 2005). Diyatomlar, sporlar, makroalg ve omurgasızların diğer propagülleri dahil olmak üzere esas olarak siyanobakteriler ve mikroalglerden oluşan mikrobiyal biyofilmlerle beslenirler (Jenkins vd., 2005; Coleman vd., 2006). Ülkemizde Çin şapkası veya taş midyesi olarak adlandırılan patella türleri; kayalık sahillerde deniz içerisinde ya da deniz seviyesinin hemen üst kısmında bulunurlar (Öztürk & Ergen, 1999). Deniz kıyılarındaki kayalık gel-git bölgelerinde, dalgalar tarafından ıslatılan taşlar üzerinde, supralittoral zonda, mediolittoral zonda ve üstinfralittoral zonda bulunurlar. Patellidae familyası dünyada 34 tür ile, patella

cinsi 9 tür ile temsil edilir. Akdeniz’de 6, ülkemizde ise 3 tür ile temsil edildiği bildirilmektedir (Güngör, 2011).

Patellalar dünyanın birçok bölgesinde insan gıdası olarak tüketilen canlılardır (Gözler vd., 2003). Literatüre bakıldığında Dünya’da ve Türkiye’de midye ve işlenmiş midye üzerine yapılmış birçok çalışma bulunmaktadır (Kılınç vd., 2018). Fakat *Patella* sp.’nin et kalitesi açısından değerlendirildiği herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, kıyı sularımızdaki gel-git alanlarında dolgu ve doğal kayaların üzerine kendini yapıstırarak yaşayan ve Türkiye’de yeterince ekonomik olarak değerlendirilmeyen *Patella* sp.’nin et kalitesi açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmada; Giresun kıyı şeridinde yer alan 3 farklı bölgeden toplanan (Sanayi, Espiye ve Piraziz istasyonları) *Patella* sp.’ların fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılarak mevsimsel açıdan et kalitesindeki değişimler yorumlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal: Araştırma, 4 mevsimi kapsayacak şekilde Nisan 2019–Ocak 2020 tarihleri arasında (sonbahar, kış, ilkbahar, yaz mevsimlerinde) Giresun ili sahil şeridindeki deniz ile irtibatlı kayalık alanlardan (gel-git alanları) temin edilmiştir. Bu amaçla örnekleme istasyonu olarak Giresun Merkez (Sanayi önü) koordinat (40°54'49.4"K, 38°25'29.2"D), Eynesil kıyı şeridinde (41°04'05.5"K, 39°08'46.7"D) koordinattan ve Piraziz kıyı şeridindeki (40°56'59.2"K, 38°09'41.6"D) koordinattan seçilmiştir.

Fiziksel analizler: *Patella* sp. örneklerinin su aktivite değerleri, 25 °C sıcaklıkta, Aqualab 4TE (Meter Group, Inc., USA) marka su aktivitesi tayin cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Analiz periyodu boyunca örneklerinin, beyaz standart yüzey üzerinde, HunterLab MiniScan EZ (Hunter Associates Laboratory, Inc., USA) ile L^* (açıklık) , a^* (kırmızı-yeşil) ve b^* (sarı-mavi) renk parametreleri ölçülmüştür. *Patella* sp. örneklerinin renk değişimleri (ΔE^*), aşağıda verilen eşitlikten (1.1) yararlanılarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E^* = [(L_o^* - L^*)^2 + (a_o^* - a^*)^2 + (b_o^* - b^*)^2]^{1/2} \quad (1.1)$$

Eşitlikte yer alan L_o , a_o ve b_o standart yüzeyin renk parametreleri iken, L , a ve b değerleri, örneklerin renk parametreleridir.

Kimyasal analizler: *Patella* sp. örneklerinin pH değerleri, 10 gram örnek, 90 mL distile suda homojen hale getirildikten sonra, Mettler-Toledo (Mettler-Toledo International Inc., Switzerland) marka pH metre ile yapılmıştır. Örneklerin ham kuru madde miktarları ile ham

kül analizleri Süleyman (2016)'a göre yapılmıştır. Araştırmada *Patella* sp. örneklerinin protein tayini A.O.A.C., 981.10 (1984) metoduna göre, Kjeldahl metoduyla yapılmış olup, örnekler 6,25 çarpım faktörü ile çarpılıp hesaplanmış, sonuçlar kuru madde esasına göre belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler: Laboratuvara aseptik şartlarda getirilen numuneler, steril bir cam kap içine alınarak kabın ağzı hijyenik olarak kapatılmıştır. Aseptik şartlarda 10 g örnek, 90 mL steril Maximum Recovery Diluent Broth (MRD, Merck) besiyeri ile steril Stomacher poşetine aktarılmıştır. Stomacher'de 60 saniye homojenize edilerek elde edilen solüsyondan, steril bir pipetle 1 mL çekilerek 9 mL MRD Broth (Merck) bulunan deney tüplerine aktarılmıştır. Böylece önce 10^2 'lik, aynı işlemler tekrarlanarak 10^7 'ye kadar seri dilüsyonlar elde edilmiştir (ISO 6887-1, 1999). *Patella* sp. örneklerinin toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı (TMAB) Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyerinde yayma yöntemi uygulanarak, 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonucunda oluşan koloniler sayılarak belirlenmiştir (FDA, 1995). Toplam psikrofilik bakteri sayısı, Plate Count Agar (PCA, Merck) besiyerinde yayma yöntemi uygulanarak 7°C'de 10 gün inkübasyon sonrasında oluşan koloniler sayılarak belirlenmiştir (Turan ve Onay, 2015). Koliform grup bakteri sayısının belirlenmesinde, Violet Red Bile Agar (VRB Agar, Merck) besiyeri kullanılarak, petri kutuları 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş ve sayım sonuçları alınmıştır (Özen & Çoşkun, 2014). *Patella* sp. örneklerinin *E. coli* sayımın yapılması için 3'lü Tüp En Muhtemel Sayım (EMS) yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla 9 mL olarak hazırlanan, durham tüpü içeren steril Laurel Sulfate Broth (LST) besiyerlerine hazırlanan seri dilüsyonlardan 1'er mL olarak ekim yapılmıştır. Ekim sonrası 37 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılan tüpler berraklık/bulanıklık ve gaz oluşumu açısından kontrol edilmiştir. Bulanıklık ve gaz oluşumu tüpler pozitif olarak kabul edilmiştir ve bu pozitif tüplere 1 mL kovacs indol ayırıcı damlatılmıştır. 1 dakikalık bekletme süresi sonunda tüp yüzeyinde vişne çürüğü rengi oluşumu gözlenen tüpler *E.coli* pozitif olarak kabul edilmiş ve EMS tablosundanyararlanılarak sonuç EMS/g olarak verilmiştir. Toplam maya ve küf sayımı için %10'luk tartarik asit ile pH'sı 3,5'e ayarlanmış, Patato Dekstroz Agar (PDA, Merck) kullanılmıştır. Ekimi yapılan petri kutuları 25 °C'de 5 gün inkübe edilerek toplam maya ve küf sayısı tespit edilmiştir (İnal, 1992).

İstatistiksel analizler: Örneklerin analiz sonuçları tesadüf blokları deneme planına göre Windows SPSS 20.0 software istatistik paket programı (SPSS Inc., Chiago, IL, USA) kullanılarak yorumlanmıştır. Araştırma sonuçları tek yönlü varyans analizi kullanılarak değerlendirilmiş ve önem farklılıkları Duncan çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir.

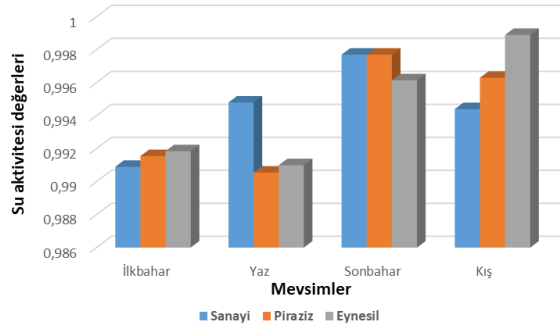
BULGULAR VE TARTIŞMA

Patella sp. örneklerinin mevsimlere ve istasyonlara göre değişen su aktivitesi değer ortalamaları Şekil 1'de gösterilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre, en düşük su aktivitesi değeri $0,9909 \pm 0,00$ olarak ilkbahar mevsiminde Sanayi istasyonundan toplanmış örneklerde tespit edilmişken, en yüksek su aktivitesi değer ortalamaları ise $0,9989 \pm 0,00$ olarak kış mevsiminde Eynesil istasyonundan toplanan örneklerde tespit edilmiştir. Şekil 1'de de görüldüğü üzere istasyonlar arasındaki su aktivitesi değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamakla birlikte; ilkbahar-sonbahar, yaz-sonbahar ve ilkbahar-kış mevsimlerinin su aktivitesi değer ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık vardır ($p \leq 0,05$). Bilindiği üzere, su aktivitesi yüksek gıdalar mikroorganizmaların gelişmesine çok elverişli gıdalardır. Bu açıdan örnekler değerlendirildiğinde, su aktivitesi değerleri 1'e oldukça yakın olduğu için kolay bozulabilir ve patojen mikroorganizma gelişmesine elverişli gıdalar grubunda değerlendirilebilirler. Bu nedenle, örneklerin toplanma sonrası işleme ve depolama koşullarına dikkat edilmesi önem arz etmektedir. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde, midye örneklerinin su aktivitesi değerlerinin ölçülmediği fakat içerdikleri su oranlarının belirlendiği görülmektedir. Bu çalışmalardan biri olan Kaba & Erkoyuncu (2005) tarafından yapılan çeşitli şekillerde işlenen midyelerin (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) su oranı %83,3 olarak tespit edilmiştir. Turan & Onay (2015) tarafından yine aynı midye türlerinde yapılan farklı bir çalışmada çiğ midyelerin su oranı ortalamaları $84,23 \pm 0,82$ olarak, haşlanmış midye örneklerinin su oranı ortalamaları ise $76,18 \pm 0,39$ olarak tespit edilmiştir.

Farklı istasyonlardan alınan *Patella* sp. örneklerinin mevsimlere bağlı olarak gösterdiği pH değişimleri Şekil 2'de gösterilmiştir. Araştırma sonuçlarına göre örneklerin pH ortalamalarının 6,87-7,76 değerleri arasında değiştiği görülmektedir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak incelendiğinde, mevsimlere bağlı olarak pH değişimleri arasında anlamlı bir farklılık bulunduğu görülmektedir. İlkbahar-kış, yaz-kış ve sonbahar-kış mevsimleri arasında pH ortalamaları arasında anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). pH değerlerinin istasyonlara bağlı olarak değişimleri incelendiğinde ise, istasyonlar arasındaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir ($p \leq 0,05$). Çalışmamız sonuçlarına benzer olarak, Özalp (2008) tarafından yapılan çalışmada midye örneklerinin pH değeri ortalamaları $7,03 \pm 0,09$ olarak bulunmuştur.

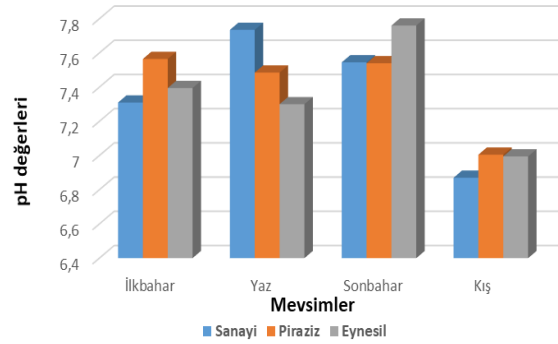
Yapılan analizler sonucunda elde edilen *Patella* sp. örneklerine ait kuru madde, kül ve ham protein değerleri (%) Tablo 1'de gösterilmiştir. Tablo 1'de gösterildiği gibi, *Patella* sp. örnekleri en yüksek kuru madde değerine tüm istasyonlar için yaz aylarında sahiptirler. En düşük kuru

madde değeri %16,68±0,10 kış mevsiminde Piraziz istasyonundan alınan örneklerde tespit edilmiş iken, en yüksek kuru madde değeri ise %27,76±4,03 olarak yaz mevsiminde Sanayi istasyonundan alınan örneklerde tespit edilmiştir. Temin edilen örnekler kuru madde değeri



Şekil 1. *Patella* sp. örneklerinin su aktivitesi değerleri.
Figure 1. Water activity values of the *Patella* sp.

açısından değerlendirildiğinde; elde edilen değerlerin yalnızca mevsimsel olarak farklılık gösterirken, istasyonlar bazından herhangi bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p \leq 0,05$)



Şekil 2. *Patella* sp. örneklerinin pH değerleri.
Figure 2. pH values of the *Patella* sp.

Tablo 1. *Patella* sp. örneklerine ait kuru madde, kül ve ham protein değerleri.

Table 1. The dry matter, ash and protein values of the *Patella* sp.

Kimyasal özellikler (%)	İstasyonlar*	Mevsimler*			
		İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış
Kuru madde	Sanayi	22,73±0,57 ^{aA}	27,76±4,03 ^{bA}	22,51±1,75 ^{aA}	17,05±0,07 ^{cA}
	Piraziz	21,46±0,65 ^{aA}	24,59±0,04 ^{bA}	18,95±1,36 ^{aA}	16,68±0,10 ^{cA}
	Eynesil	21,47±0,70 ^{aA}	25,05±1,56 ^{bA}	19,97±0,73 ^{aA}	18,62±0,17 ^{cA}
Kül	Sanayi	1,68±0,00 ^{aA}	1,65±0,08 ^{aA}	1,44±0,09 ^{aA}	2,05±0,07 ^{aA}
	Piraziz	1,84±0,07 ^{aA}	2,67±1,18 ^{aA}	1,85±0,14 ^{aA}	2,55±0,77 ^{aA}
	Eynesil	1,72±0,10 ^{aA}	1,64±0,15 ^{aA}	1,78±0,27 ^{aA}	1,64±0,07 ^{aA}
Ham protein	Sanayi	3,85±1,10 ^{aA}	7,35±0,70 ^{aA}	5,69±1,60 ^{aA}	12,82±2,28 ^{bA}
	Piraziz	3,65±0,56 ^{aA}	5,32±0,09 ^{aA}	4,11±0,37 ^{aA}	15,40±1,48 ^{bA}
	Eynesil	7,06±1,14 ^{abB}	10,04±0,30 ^{abB}	13,74±0,12 ^{abB}	13,39±6,06 ^{bA}

* Ortalama ve std. hata; a-c: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir; A-B: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

Tablo 2. *Patella* sp. örneklerinin renk değerleri

Table 2. Colour values of the *Patella* sp.

Renk değerleri	İstasyonlar*	Mevsimler*			
		İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış
*L	Sanayi	29,49±4,99 ^{abB}	26,72±2,35 ^{abB}	32,21±1,73 ^{bC}	22,88±1,49 ^{aA}
	Piraziz	22,44±1,88 ^{aA}	24,70±3,32 ^{abA}	26,03±1,65 ^{bA}	20,95±3,92 ^{aA}
	Eynesil	25,67±4,16 ^{aAB}	25,67±2,00 ^{abB}	29,14±3,72 ^{bB}	33,30±1,65 ^{cB}
*a	Sanayi	8,93±0,56 ^{bB}	6,55±0,85 ^{abB}	6,55±0,64 ^{abB}	10,27±1,12 ^{cA}
	Piraziz	7,76±1,72 ^{bA}	3,34±0,93 ^{aA}	4,85±1,37 ^{aA}	9,36±1,62 ^{cA}
	Eynesil	8,62±2,43 ^{abB}	5,73±0,71 ^{abB}	7,94±2,20 ^{abB}	13,27±0,67 ^{bB}
*b	Sanayi	33,40±2,19 ^{bB}	18,03±2,72 ^{abC}	17,97±0,91 ^{abB}	32,58±0,83 ^{bB}
	Piraziz	28,51±4,46 ^{cA}	11,23±2,31 ^{aA}	13,60±2,49 ^{abA}	29,00±2,67 ^{cA}
	Eynesil	32,97±7,09 ^{cB}	14,85±1,16 ^{abB}	18,71±3,17 ^{bB}	35,58±4,37 ^{cC}
*AE	Sanayi	75,34±4,77 ^{bA}	72,53±1,61 ^{baA}	67,26±1,41 ^{baA}	81,18±1,79 ^{cA}
	Piraziz	79,68±3,13 ^{bB}	72,73±2,79 ^{baA}	72,03±1,45 ^{abB}	81,56±2,49 ^{baA}
	Eynesil	78,65±5,22 ^{cB}	72,61±2,11 ^{abB}	70,73±2,93 ^{abB}	74,17±2,57 ^{bB}

* Ortalama ve std. hata; a-c: Aynı satırdaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir; A-C: Aynı sütundaki farklı üst simgeler $p \leq 0,05$ seviyesinde önemli bir fark olduğunu gösterir.

Çalışma sonuçlarımıza benzer olarak, Süleyman (2016) tarafından yapılan Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki kara midyenin (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) biyokimyasal kompozisyonu hakkındaki çalışmada, midye örneklerinin kuru madde değer ortalamaları % 18,95 olarak belirlenmiştir. Bilindiği üzere gıdalarda kül analizi, örnek içeriğindeki inorganik madde miktarının belirlenmesi amacıyla yapılmaktadır. Tablo 1'de gösterilen kül değerleri incelendiğinde, kuru madde değerlerinin aksine en yüksek kül değerlerinin kış mevsiminde tespit edildiği görülmektedir. En yüksek kül değeri % 2,55±0,77 olarak kış mevsiminde Piraziz istasyonundan elde edilen örneklerde belirlenmiş iken, en düşük kül değeri

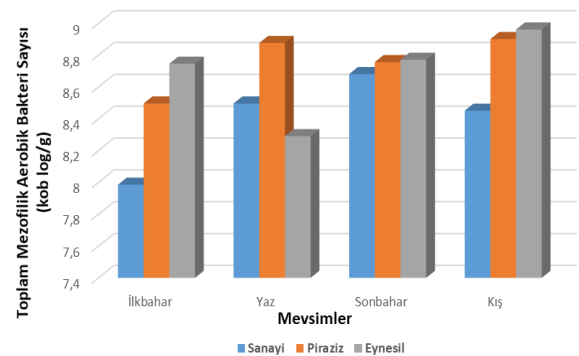
% 1,64±0,15 olarak yaz mevsiminde Eynesil istasyonundan elde edilen örneklerde belirlenmiştir. Kül değerlerindeki mevsimsel ve istasyona bağlı değişimler ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p \leq 0,05$). Çalışmamız sonuçlarına benzer olarak, Özalp (2008) tarafından midye örneklerinin kül miktarlarının % 1,16±0,53 olarak bulunmuştur. Süleyman (2016) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, midye örneklerinin kül miktar ortalamaları % 1,70 olarak belirlenmiştir. İstasyonlardaki protein değer ortalamaları arasında ise farklılık bulunmamaktadır ($p \leq 0,05$). En düşük ham protein değeri % 3,65±0,56 olarak ilkbahar ayında Piraziz istasyonunda tespit edilmiş iken, en yüksek protein oranı ise yine Piraziz

istasyonundan yaz ayında $15,40 \pm 1,48$ olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarımıza benzer olarak, Süleyman (2016) tarafından yapılan çalışmada midye örneklerinin ortalama protein değerleri $12,04$ olarak bulunmuştur. Özalp (2008) çalışmasında midye (*Mytilus galloprovincialis* L.) etinin protein değer ortalamalarını ise $10,80$ olarak belirlemiştir. Bilindiği üzere, su ürünlerinin kimyasal kompozisyonlarının avlandıkları bölgeye, avlandıkları mevsime, beslenme durumuna, çevre sıcaklığına, iriliğine, yaşına, cinsiyetine ve diğer faktörlere bağlı olarak değişim göstermektedir. Bu durum, çalışmamızda elde ettiğimiz biyokimyasal sonuçlardaki farklılıkları açıklamaktadır. Ayrıca, ortamları olan su sıcaklığı, tükettiği besin maddeleri ve büyüme periyodu gibi çeşitli faktörler su ürünlerinin et verimini, mikrobiyal karakterizasyonunu ve biyokimyasal kompozisyonunu etkilemektedir (Orban vd., 2002). Bu durum çalışmamız sonuçlarında elde ettiğimiz mevsimsel farklılıkları açıklamaktadır.

Patella sp. örneklerine ait renk değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Analizlerde renk ölçümlerinde Hunter kolorimetresi kullanılmıştır. Hunter kolorimetresinde üç renk değeri vardır; *a değeri kırmızı veya yeşilliği, *b değeri sarılık veya maviliği, *L değeri ise 0 (siyah) ve 100 (beyaz) arasındaki aydınlık derecesini ölçer. Buna göre örneklerin *L değerleri incelendiğinde, en küçük *L değerinin $22,44 \pm 1,88$ olarak Piraziz istasyonunda İlkbahar mevsiminde, en yüksek *L değerinin ise $33,30 \pm 1,65$ olarak Eynesil istasyonunda Kış mevsiminde tespit edildiği görülmüştür. *L değerleri arasında hem istasyonlar hem de mevsimlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). Tablo 2'de görüldüğü gibi örneklerin *a değerleri $3,34 \pm 0,93 - 13,27 \pm 0,67$ arasında değişmektedir. *L değerine benzer olarak en yüksek *a değeri de kış mevsiminde Eynesil istasyonunda tespit edilmiştir. Yine *a değerleri arasında hem istasyonlar hem de mevsimlere göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p \leq 0,05$). Örneklerin *b değerleri incelendiğinde ise en yüksek *b değerinin $35,58 \pm 4,37$ olarak diğer renk değerlerine benzer şekilde Kış mevsiminde Eynesil istasyonunda tespit edilmişken, en düşük *b değeri $11,23 \pm 2,31$ olarak yaz mevsiminde Piraziz istasyonunda tespit edilmiştir. Örneklerin renk değişimlerini ifade eden *ΔE değeri incelendiğinde ise; bu değer $67,26 \pm 1,41 - 81,56 \pm 2,49$ arasında değiştiği görülmektedir. *ΔE değer ortalamaları arasındaki değişim hem istasyonlara hem de mevsimlere göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p \leq 0,05$).

Gıda ürünlerinin ve bulunduğu ortamın hijyen kontrollerinde ve gıdaların raf ömrünün tespitinde Toplam Mezofilik Aerobik Koloni (TMAB) sayısı kullanılmaktadır. TMAB sayısı arttıkça hijyen kalitesinin düştüğü ifade edilmektedir (Ünlütürk & Turantaş, 2003). Gıda uzmanları ve midye dolma üzerine yapılan çalışmalara göre; meze tipi yiyeceklerde, hazır yemeklerde ve işlenmiş yumuşakçalarda (kabuklular-çift kabuklular)

TMAB sayısının $5 \log \text{ kob/g}$ 'ı geçmemesi önerilmektedir (CFS, 2014). Su ürünleri yönetmeliği (2003)'e göre ise tüketilebilir sınır değer $6 \log \text{ kob/g}$ 'dır. Yapılan çalışmada *Patella* sp. örneklerine ait TMAB ortalama değerlerinin mevsimlere ve istasyonlara bağlı olarak değişimleri Şekil 3'de gösterilmiştir. Şekil 3'te de görüldüğü üzere, en yüksek TMAB bakteri sayısı kış mevsiminde $8,96 \pm 0,19 \log \text{ kob/g}$ olarak Eynesil istasyonunda tespit edilmiş iken, en düşük TMAB sayısı ise $7,98 \pm 0,17 \log \text{ kob/g}$ olarak Sanayi istasyonundan alınan örneklerde ilkbahar mevsiminde tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde edilen TMAB sayıları tavsiye edilen ve tüketilebilir sınır değerlerin üzerindedir. İstatistiksel olarak TMAB sayı ortalamaları değerlendirildiğinde, mevsimlerdeki ve istasyonlardaki TMAB ortalamaları arasında bir farklılık bulunmamaktadır ($p \leq 0,05$). Literatür incelendiğinde *Patella* sp.'nin mikrobiyolojik özelliklerine ait çalışma örneğinin olmadığı görülmektedir. Çalışmamıza benzer olarak Güngörür & Bostan (2019) yapılan bir çalışmada, TMAB sayısı açık mekânlarda satışa sunulan midye dolma örneklerinde $2,20-7,23 \log \text{ kob/g}$ (ortalama $6,27 \log \text{ kob/g}$), kapalı mekânlarda satışa sunulan midye dolma örneklerinde ise $2,11-5,34 \log \text{ kob/g}$ (ortalama $4,27 \log \text{ kob/g}$) arasında saptanmıştır. Turan & Onay (2015) tarafından yapılan bir başka çalışmada, çiğ midyelerin TMAB sayısı $3,58 \log \text{ kob/g}$ şeklinde belirlenmiş olup haşlandıktan sonra bu değer $3,16 \log \text{ kob/g}$ 'a düştüğü belirlenmiştir. Kılınç vd., (2018) tarafından yapılan farklı bir çalışmada ise, İzmir'in üç farklı bölgesinde (A,B,C) kış mevsiminde satışa sunulan ve marketlerden rastgele örnekleme yöntemiyle alınan ve incelenen midye dolma örneklerinin TMAB sayılarının $<10-4,6 \times 10^5 \text{ kob/g}$ arasında değiştiği tespit edilmiştir.

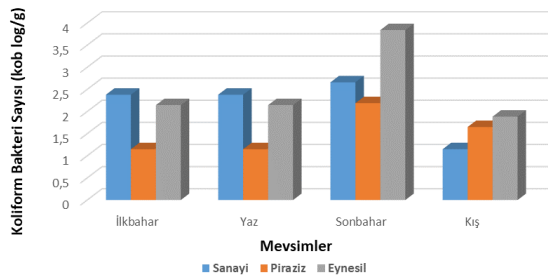


Şekil 3. *Patella* sp. örneklerinin Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri sayıları

Figure 3. Total mesophilic aerobic bacteria values of the *Patella* sp.

Koliform grup Gram negatif bakteriler çeşitli gıdalarda sıkça aranan bakterilerdir. Temiz sularda avlanan balık ve diğer yenilebilir su ürünlerinde genellikle bulunmazlar. Fekal koliform grup bakterilerin varlığı, yetersiz işleme koşullarını veya işlemden sonraki

bulaşmayı gösterir (Patır vd., 2011). Midyelerin kirliliğinin çok olduğu bölgelerde yetişmesinden dolayı, pek çok patojen mikroorganizmayı içermesi çiğ olmasının yanı sıra az pişmiş olarak tüketilmesinin çok büyük sağlık problemlerine yol açacağı bilinmektedir (İrkin vd., 2007). Bu açıdan değerlendirildiğinde, koliform bakteri sayısının çok düşük çıkması ise midyelerin buldukları ve toplandıkları bölgenin fekal açıdan temiz olmasından kaynaklanmaktadır. Su Ürünleri Yönetmeliği (2003)'e göre çift kabuklu yumuşakçalar için maksimum sınır değer 2 log kob/g'dır. Çalışmamızda koliform grup bakteri sayısının 1,15±0,21–2,38±0,11 log kob/g değerleri arasında değiştiği tespit edilmiştir. Bu değerler Su Ürünleri Yönetmeliğinde belirtilen sınır değerler içerisinde. Şekil 4'te örneklerin koliform bakteri sayısı gösterilmiştir. Koliform bakteri sayı ortalamaları arasında hem mevsimsel hem de istasyonlara bağlı olarak istatistiksel olarak farklılık bulunmamaktadır ($p \leq 0,05$).



Şekil 4. *Patella* sp. örneklerinin koliform bakteri sayısı.
Figure 4. Coliform bacteria number of the *Patella* sp.

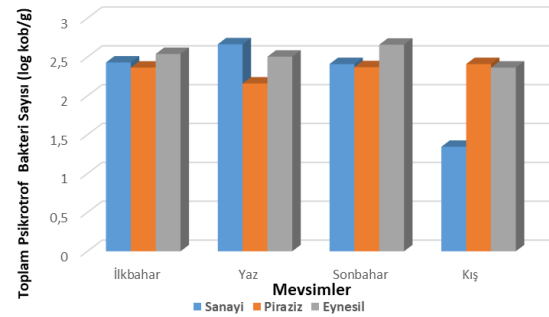
E. coli, *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteridir. Hijyen indikatörü olması itibarıyla gıda hijyeni kontrollerinde önem taşır. Bunun yanı sıra bazı *E. coli* suşlarının patojenik özellik gösterdiği de bilinmektedir (Güngörür & Bostan, 2019). Çalışmamızda, örneklerin *E. coli* analizleri En Muhtemel Sayı yöntemine göre yapılmıştır. *Patella* sp. örneklerine ilişkin *E. coli* analiz sonuçları ise Tablo 3'te gösterilmiştir ve analiz sonuçları EMS/g olarak verilmiştir. Tablo 3'deki sonuçlar incelendiğinde en düşük *E. coli* ortalama değeri 0,30 EMS/g olarak tespit edilmişken, en yüksek *E. coli* değeri ise 24,00 EMS/g olarak tespit edilmiştir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'nde tüketime hazır her türlü salata, şarküteri ürünleri ve soğuk mezeler vb. gıda ürünlerinde *E. coli* limiti 1×10^1 kob/g (1 log kob/g) olarak belirtilmiştir (TGK, 2011). Yapılan farklı bir çalışmada, midye etlerinin çiğ olarak yenildiği gibi hafif pişmiş durumda tüketildiği, bu nedenle canlı midyelerde *E. coli* 10^2 kob/g'ı geçmiyorsa işleme alınabileceği belirtilmektedir (İrkin vd., 2007). Buna göre örneklerimizin *E. coli* değerleri mevsimlere ve istasyonlara göre belirtilen limitleri aştığı görülmektedir.

Tablo 3. *Patella* sp. örneklerinin *E. coli* sonuçları (EMS/g).

Table 3. *E. coli* results of *Patella* sp.

Mikrobiyolojik Analizler	Mevsimler				
	İstasyon	İlkbahar	Yaz	Sonbahar	Kış
<i>E. coli</i>	Sanayi	2,30	15,00	24,00	0,74
	Piraziz	0,30	7,50	0,30	0,36
	Eynesil	0,30	0,92	15,00	0,74

Araştırmamızda elde edilen toplam psikrofilik bakteri analizleri sonucunda, en yüksek psikrofil bakteri sayısının yaz mevsiminde Sanayi istasyonunda 2,66±0,02 log kob/g olarak, en düşük bakteri sayısı yine Sanayi istasyonunda 1,35±0,48 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Şekil 5'de *Patella* sp. örneklerinin toplam psikrofilik bakteri sayıları gösterilmiştir. Araştırma sonuçları istatistiksel olarak yorumlandığında hem mevsimsel hem de istasyonlardan kaynaklı olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p \leq 0,05$). Araştırma sonuçlarına benzer olarak, Turan vd., (2012) 3,23 log kob/g psikrofil bakteri yüküne sahip olan midyelerin 4. gün sonundaki yüklerini streç filmlenen ve suda saklanan gruplarda 6,07–6,17 log kob/g olarak bulmuştur.



Şekil 5. *Patella* sp. örneklerinin toplam psikrofilik bakteri sayısı.
Figure 5. Total psychrophilic bacteria number of the *Patella* sp.

Patella sp. örneklerine ait toplam maya-küf sonuçları Şekil 6'da gösterilmiştir. Şekil 6'da da görüldüğü üzere; en yüksek maya-küf sayısı Piraziz istasyonunda 5,09±0,03 log kob/g olarak kış mevsiminde tespit edilmişken, en yüksek maya-küf ortalama değeri ise yine Piraziz istasyonunda 6,76±0,03 log kob/g olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak, istasyonlardaki ortalama maya-küf sayı değerleri arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p \leq 0,05$). Mevsimsel olarak ise ortalama maya-küf değerleri arasındaki fark anlamlı olup, sonbahar ve kış mevsimindeki değişimler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir ($p \leq 0,05$). Kılınç vd., (2018) tarafından yapılan İzmir'in farklı bölgelerinde satışa sunulan midye dolmalarda maya ve küf değerlerinin en düşük <10 ve en yüksek $6,0 \times 10^1$ kob/g arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. İrkin vd., (2007) Çanakkale bölgesini kapsayan bir çalışmada, donmuş örneklerinde toplam maya küf sayısı $1,0 \times 10^2$ kob/g olarak bulunmuştur. Çalışmada elde ettiğimiz maya-küf değerlerinin diğer çalışmalara oranla daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu

durumun; örneklerin toplandığı alana, çevresel faktörlere ve mevsimlere bağlı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak, literatürdeki çalışmalardan farklılıkla, et kalitesi ve tüketim uygunluğu açısından *Patella* sp. örneklerinin değerlendirildiği çalışmamızda, örneklerin fizikokimyasal açıdan tüketime uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat örnekler mikrobiyolojik olarak tüketim sınırları üzerinde değerlere sahiptirler ve bu değerler istasyonlar ile mevsimlere bağlı olarak da değişiklik göstermektedir. Mikrobiyolojik değerler üzerinde, avlanma bölgesinin, su ve çevre sıcaklığı ile su mikrobiyolojik kalitesinin etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca gıda güvenliği açısından midye tüketimi genel olarak değerlendirildiğinde, önemli bir parametre olan ağır metal yoğunluğu da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu kapsamda, *Patella* sp.'nin gıda olarak tüketilmesinde gelecekteki çalışmalarda ağır metal içeriklerinin de belirlenmesi faydalı olacaktır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma “Giresun Kıyı Şeridindeki *Patella* sp.'nin Et Kalitesi Değişiminin Mevsimsel Olarak Belirlenmesi” başlıklı Yüksek Lisans Tez çalışmasından üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Akkan, T. & Çolaker, F. (2020).** Determining the Bacteriological Pollution Level of Gelevera Creek, Giresun. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(4), 691-695. DOI: [10.35229/jaes.818132](https://doi.org/10.35229/jaes.818132)
- Akkan, T. & Mutlu, C. (2016.)** Determination of antibiotics resistance levels in Enterobacteriaceae isolated from Giresun Coasts. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 4(8), 640-650. DOI: [10.24925/turjaf.v4i8.640-650.721](https://doi.org/10.24925/turjaf.v4i8.640-650.721)
- Akkan, T. & Topkaraoğlu, T. (2019).** Determination of antibiotic resistance levels of *Escherichia coli* isolates obtained from freshwater sources: Batlama Creek. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3), 539-544. DOI: [10.35229/jaes.650210](https://doi.org/10.35229/jaes.650210)
- Akkan, T. (2017).** Antibiotic resistance case study: Enterobacteriaceae isolated from Batlama Creek in Giresun, Turkey. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 5(8), 969-972. DOI: [10.24925/turjaf.v5i8.969-972.1262](https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i8.969-972.1262)
- Akkan, T., Mehel, S. & Mutlu, C. (2019).** Determining the level of bacteriological pollution level in Yağlıdere Stream, Giresun. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(2), 83-88. DOI: [10.17216/limnofish.450722](https://doi.org/10.17216/limnofish.450722)
- Anonim. (2003).** Su ürünleri yönetmeliği. *Resmî Gazete*, (25052).
- AOAC. (1984).** Official methods of analysis, Washington DC, USA.
- CFS. (2014).** Microbiological Guidelines for Foods (For ready-to-eat food in general and specific food items) August 2014 (revised), Food and Environmental Hygiene Department, Center for Food Safety, USA.
- Coleman, R.A., Underwood, A.J., Benedetti-Cecchi, L., Åberg, P., Arenas, F., Arrontes, J., Castro, J., Hartnoll, R.G., Jenkins, S.R., Paula, J., Della Santina, P. & Hawkins, S.J. (2006).** A continental scale evaluation of the role of limpet grazing on rocky shores. *Oecologia*, 147, 556-564.
- FDA. (1995).** Bacteriological Analytical Manual. Food and Drug Administration 16 th edition. AOAC Int. Gaithersburg.
- Gögüş, A.K. & Kolsarıcı, N. (1992).** *Su Ürünleri Teknolojisi*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 1243, Ders Kitabı: 358, Ankara, 261 s.
- Gözler A.M., Engin S., Çiloğlu E. & Şahin C. (2003).** Deniz salyangozlarından *Patella caerulea* L., 1758'in Doğu Karadeniz (Rize) kıyılarında et verimi ve mevsimsel değişimi, *XII.Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, 2-5 Eylül 2003, Elazığ, Türkiye, 281-285.
- Güngör, M. (2011).** *Türkiye denizlerinde bulunan Çin şapkası (Patella caerulea Linnaeus, 1758) popülasyonlarının genetik incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Hatay, Türkiye, 49s.
- Güngörür, M.N. & Bostan, K. (2019).** İstanbul'da Satışa Sunulan midye dolmaların mikrobiyolojik kalitesi. *Aydın Gastronomy*, 3(1), 55-63.
- İnal, T. (1992).** *Besin Hijyeni Hayvansal Gıdaların Kontrolü*, Final Ofset, İstanbul, 783s.
- İrkin, R., Korukluoğlu, M. & Tavşanlı H. (2007).** İhracata yönelik hazırlanan bazı deniz ürünlerinin mikrobiyal özellikleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 64, 26-30.
- Jenkins, S.R., Coleman, R.A., Della Santina, P., Hawkins, S.J., Burrows, M.T. & Hartnoll, R.G. (2005).** Regional scale differences in the determinism of grazing effects in the rocky intertidal. *Marine Ecology Progress Series*, 287, 77-86. DOI: [10.3354/meps287077](https://doi.org/10.3354/meps287077)
- Kaba, N. & Erkoyuncu, İ. (2005).** Çeşitli şekillerde işlenen midyelerin (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) donmuş depolanması sırasında duyuşal ve kimyasal kalitelerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 36(2), 193-200.
- Kılınç, B., Atalay, S.D. & Şahin, V.C. (2014).** Midye dolmanın gıda güvenliği açısından farkındalığının belirlenmesi. *4.Geleneksel Gıdalar Sempozyumu*, 17-19 Nisan 2014, Adana, Türkiye, 194-197.
- Kılınç, B., Yılmaz, B.Ş. & Gören, B. (2018).** İzmir'in farklı bölgelerinde satışa sunulan midye dolmaların mikrobiyolojik kalitesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri*

- Fakültesi Dergisi*, 14(4), 276-290. DOI: [10.22392/egirdir.403570](https://doi.org/10.22392/egirdir.403570)
- Mol, T.S. (2006).** Fayda ve riskleriyle midye. *Dünya Gıda Dergisi*, 5, 83-88.
- Mutlu, C., Eraslan Akkan, B. & Verep, B. (2018).** The heavy metal assessment of Harsit Stream (Giresun, Turkey) using multivariate statistical techniques. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27, 12B, 9851-9858.
- Orban, E., Di Lena, G., Nevigato, T., Casini, I., Marzetti, A. & Caproni, R. (2002).** Condition index and chemical composition of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) cultured in two diVerent Italian sites. *Food Chemistry*, 77, 57-65. DOI: [10.1016/S0308-8146\(01\)00322-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00322-3)
- Özalp, B. (2008).** Bazı su ürünlerinin bileşimi ve değişik teknolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya, Türkiye, 97s.
- Özen, F. & Coşkun, F. (2014).** Effect of herbal extracts addition on microbial composition and sensory properties of Tekirdag meatballs. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty*, 11(3), 100-109.
- Öztürk, B. & Ergen, Z. (1999).** Patella species (Archaeogastropoda) distributed in Saros Bay (Northeast Aegean Sea). *Turkish Journal of Zoology*, 23(EK2), 513-520.
- Patır, B., Özpolat, E., Şeker, P. & Yalçın, H. (2011).** Vakum ambalajlı gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) havyarının üretimi ve muhafazası sırasında mikrobiyolojik kalitesinde meydana gelen değişimler. *FÜ Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 25(1), 31-36.
- Polat, N. & Akkan, T. (2016).** Assessment of heavy metal and detergent pollution in Giresun Coastal Zone, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25(8), 2884-2890.
- Sipahi, N., Mutlu, C. & Akkan, T. (2013).** Giresun İlinde tüketime sunulan bazı balıklardan izole edilen *Enterobacteriaceae* üyelerinin antibiyotik ve ağır metal dirençlilik düzeyleri. *Gıda*, 38(6), 343-349. <https://doi.org/10.5505/gida.2013.55264>
- Süleyman, B. (2016).** Doğu Karadeniz Bölgesi'ndeki kara midyenin (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck, 1819) biyokimyasal kompozisyonu ve et kalitesinin mevsimsel değişiminin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 92s.
- TGK (2011).** Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (*Resmi Gazete*, Tarihi: 29.12.2011 Resmi Gazete Sayısı: 28157 (3.mükerrer).
- Turan, H. & Onay, R.T. (2015).** Modifiye atmosfer paketlenen uygulanan midyelerin (*Mytilus galloprovincialis*, Lamarck 1819) buzdolabı (4±2° C) koşullarında raf ömrünün tespiti. *Journal of Food and Health Science*, 1(4), 185-198. DOI: [10.3153/JFHS15018](https://doi.org/10.3153/JFHS15018)
- Turan, H., Kocatepe, D., Altan, C.O. & Erkoyuncu, İ. (2012).** Soğukta saklanan tüketime hazır midyelerin (*Mytilus galloprovincialis* L. 1819) besin kompozisyonu ve kalite kriterlerinin incelenmesi. 11. *Hatay Gıda Kongresi*, 10-12 Ekim 2012, Hatay, Türkiye, 364s.
- TÜİK. (2020).** Su Ürünleri İstatistikleri, Tarım ve Orman Bakanlığı, Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Uncumusaoglu, A.A., Sengul, U. & Akkan, T. (2016).** Environmental contamination of heavy metals in the yağlıdere stream (Giresun), Southeastern Black Sea. *Fresenius Environmental Bulletin*, 25, 5492-5498.
- Uncumusaoglu, A.A. & Akkan, T. (2017).** Assessment of Stream Water Quality Using Multivariate Statistical Techniques. *Polish Journal of Environmental Studies*, 26(4), 1715-1723. DOI: [10.15244/pjoes/68952](https://doi.org/10.15244/pjoes/68952)
- Ünlütürk, A. & Turantaş, F. (2003).** Mikrobiyal bulaşma kaynakları. *Gıda mikrobiyolojisi*. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, Bornova, İzmir. ISBN: 975-483-383-4.



Genetic Analysis of the Mitochondrial *rrnS* Gene of Zoonotic *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) Isolated from *Micromesistius poutassou* (R.) in the Aegean Sea

Gökmen Zafer PEKMEZCİ

Department of Aquatic Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ondokuz Mayıs, Samsun, Turkey

Geliş/Received: 12.04.2021

Kabul/Accepted: 17.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Pekmezci, G.Z. (2021). Genetic Analysis of the Mitochondrial *rrnS* Gene of Zoonotic *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) Isolated from *Micromesistius poutassou* (R.) in the Aegean Sea. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 266-269.
Atf yapmak için: Pekmezci, G.Z. (2021). Ege Denizi'ndeki *Micromesistius poutassou*'dan (R.) İzole Edilen Zoonotik *Anisakis pegreffii*'nin (Nematoda: Anisakidae) Mitokondriyal *rrnS* Geninin Genetik Analizi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 266-269.

<https://orcid.org/0000-0002-7791-1959>

*Corresponding author's:
Gökmen Zafer PEKMEZCİ
Department of Aquatic Animal Diseases,
Faculty of Veterinary Medicine, University of
Ondokuz Mayıs, Samsun, Turkey
✉: zpekmezci@omu.edu.tr

Abstract: Ascaridoid nematodes were found in viscera of the blue whiting *Micromesistius poutassou* (Risso, 1826) from the Aegean Sea in the parasitological examination. Collected nematodes were morphologically identified as the third (L3) stage of *Anisakis* type I larvae and then subject to Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) analysis of the internal transcribed spacer (ITS) region to identify the species. Randomly selected larvae were molecularly confirmed as *Anisakis pegreffii* by RFLP analysis. Subsequently, L3 of *A. pegreffii* were amplified and bi-directionally sequenced at the small subunit ribosomal RNA (*rrnS*) gene. The *rrnS* sequence of *A. pegreffii* (MT484284) had 100% identity with the *rrnS* gene of *A. pegreffii* (JX500050, LC222461, MF140359, MT312511, MT312512) which were found in fish and cetaceans hosts, *Scomber japonicus*, *Conger myriaster*, *Neophocaena asiaorientalis*, and *Stenella coeruleoalba*, from the Mediterranean Sea, Japanese, Chinese, and Korean waters, respectively. This study provided the genetic analysis of zoonotic *A. pegreffii* from the Turkish marine waters based on the *rrnS* gene for the first time. This sequence (MT484284) can be used as the novel *rrnS* sequence of *A. pegreffii* in the genetic analysis for ascaridoid nematodes in the Mediterranean Sea.

Keywords: *Anisakis pegreffii*, molecular characterization, mtDNA, *rrnS* gene, Turkish coast.

Ege Denizi'ndeki *Micromesistius poutassou*'dan (R.) İzole Edilen Zoonotik *Anisakis pegreffii*'nin (Nematoda: Anisakidae) Mitokondriyal *rrnS* Geninin Genetik Analizi

*Sorumlu yazar:
Gökmen Zafer PEKMEZCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim
Dalı, Samsun, Türkiye
✉: zpekmezci@omu.edu.tr

Öz: Parazitolojik incelemede Ege Denizi'nden mavi mezgit *Micromesistius poutassou* (Risso, 1826) balığının iç organlarında askaridoid nematodlar bulundu. Toplanan nematodlar morfolojik olarak üçüncü (L3) dönem *Anisakis* tip I larva olarak tanımlandı ve daha sonra türleri tanımlamak için internal transcribed spacer (ITS) bölgesi Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizm (RFLP) analizlerine tabi tutuldu. Rastgele seçilen larvalar RFLP analizleri ile *Anisakis pegreffii* olarak doğrulandı. Daha sonra *A. pegreffii*'nin L3'ünün küçük alt birim ribozomal RNA (*rrnS*) geni çoğaltıldı ve iki yönlü olarak sekanslandı. *Anisakis pegreffii*'nin *rrnS* sekansı (MT484284) Akdeniz, Japon, Çin ve Kore sularından *Scomber japonicus*, *Congeaer asyager*, *Neophocaena asiaorientalis* ve *Stenella coeruleoalba* gibi balık ve deniz memelilerinde bulunan *A. pegreffii*'nin *rrnS* geni (JX500050, LC222461, MF140359, MT312511, MT312512) ile %100 benzerliğe sahipti. Bu çalışma ilk kez Türk deniz sularından zoonotik *A. pegreffii*'nin *rrnS* genine dayalı genetik analizini sağladı. Bu dizi (MT484284), Akdeniz'deki askaridoid nematodların genetik analizinde *A. pegreffii*'nin yeni *rrnS* dizisi olarak kullanılabilir.

Anahtar kelimeler: *Anisakis pegreffii*, moleküler karakterizasyon, mtDNA, *rrnS* geni, Türk kıyıları.

INTRODUCTION

Adult nematodes of *Anisakis* Dujardin, 1845 are mainly found in the gastrointestinal canal of marine mammals. Different marine mammals and marine fish or squids serve as definite and intermediate or paratenic hosts. Based on molecular genetic markers such as nuclear and mitochondrial DNA, nine distinct *Anisakis* species have been confirmed worldwide (Mattiucci & Nasseti, 2008; Mattiucci et al., 2018). Among the mitochondrial genes, the cytochrome oxidase I (*cox1*), II (*cox2*), and the small ribosomal subunit of RNA (*rrnS*) have been widely used for the genetic analysis of *Anisakis* species (Mattiucci et al., 2014; Mattiucci et al., 2018; Pekmezci & Onuk, 2020). *Anisakis pegreffii* is zoonotic nematodes, and the dominant species in the Mediterranean Sea, widespread in all the fish species (Mattiucci & Nasseti, 2008; Mattiucci et al., 2018).

Both mitochondrial *cox2* and nuclear ITS data of *Anisakis* species from marine fish were previously reported from Turkish marine waters (Pekmezci et al., 2014). Moreover, genetic analyses of *rrnS* loci of *Hysterothylacium aduncum*, *H. fabri*, *Contracaecum overstreeti*, and *A. typica* among ascaridoids nematodes of marine fish were molecularly made from the coast of Turkey (Pekmezci, 2019; Pekmezci & Yardimci, 2019; Pekmezci & Onuk, 2020; Simsek et al., 2021). There is no study about the genetic characterization of the mitochondrial *rrnS* gene of *A. pegreffii* from the Turkish marine waters. Therefore, the molecular characterization of the *rrnS* gene of *A. pegreffii* from Aegean Sea is aimed for the first time in the current study.

MATERIALS AND METHODS

Morphological examinations: Nematodes were collected from *Micromesistius poutassou* (R.) in the Aegean Sea coasts of Turkey. Parasites were individually cut into three parts. The anterior and posterior parts were used for morphological identifications. Nematodes were morphologically identified by light microscope according to Berland, (1961) and Petter & Maillard, (1988). Morphologically identified three representative specimens were randomly selected and genetically analysed.

PCR, RFLP analysis and DNA sequencing: The middle parts were extracted for genomic DNA (gDNA) using commercial kits. The internal transcribed spacer (ITS) region (ITS1, 5.8S rDNA, ITS2) of nuclear DNA was amplified using polymerase chain reaction (PCR) with NC5/NC2 primers (Zhu et al., 1998) in a final volume of 50 µl as follows: 2X Hot Start PCR Master Mix, 0.5 µM of each primer, and 10-50 ng gDNA. The PCR reactions were subjected to initial denaturation at 95°C for 5 min, followed

by 30 cycles of 95°C for 60 s, 55°C for 60 s, 72°C for 60 s, and a final extension at 72°C for 10 min. All PCR amplicons were electrophoresed on 1% gel and visualized under UV illumination. The ITS region was then digested with *HhaI* and *HinfI* enzymes using restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis to identify the species (D'Amelio et al., 2000). RFLP patterns were electrophoresed on 1.5% gel and visualized under UV illumination. The small subunit ribosomal RNA (*rrnS*) gene in the mitochondrial DNA of randomly selected three *Anisakis* species was amplified PCR (D'Amelio et al., 2007). PCR was performed using primers MH3/MH4.5 in a final volume of 50 µl as follows: 2X Hot Start PCR Master Mix, and 0.5 µM of each primer, and 10–50 ng gDNA. The PCR protocols were 95°C for 60 s, 55°C for 60 s, 72°C for 60 s for 30 cycles, and a final extension at 72°C for 10 min. PCR amplicons were electrophoresed using a 1.5% agarose gel. Randomly selected three individuals were purified with a PCR purification kit and sequenced using the MH3/MH4.5 primers with an ABI PRISM 3130xl automatic sequencer using a BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit by MacroGen (Amsterdam, Netherlands).

Genetic analysis: Phred scores of their nucleotide bases were checked, and forward and reverse sequences were assembled and then trimmed to remove MH3/MH4.5 primers in Geneious R11 (Kearse et al., 2012). The assembled sequence was blasted in the GenBank database to examine the nucleotide similarity (Altschul et al., 1990). Obtained the *rrnS* data from GenBank were aligned by ClustalW in MEGA X multiple sequence alignments (Kumar et al., 2018). Pairwise distances were estimated using the K2P model in MEGA X (Kumar et al., 2018).

RESULTS

Ascaridoid nematodes were morphologically identified as the third stage of *Anisakis* type I larvae. Some specimens of *Anisakis* larvae were classified as *A. pegreffii* by RFLP analyses with *HhaI* and *HinfI* enzymes as previously described by D'Amelio et al., (2000). The amplified *rrnS* gene of *A. pegreffii* was produced ~500 bp in the PCR analyses. After DNA sequencing of *rrnS* gene and trimmed to primers, the 491 bp length products were obtained in the present study. There were no intraspecific nucleotide differences detected within *rrnS* gene of three representatives. Therefore, the *rrnS* sequence of one representative was submitted to GenBank was given the accession number: MT484284. Comparison of the *rrnS* sequence of *A. pegreffii* from the Aegean Sea (MT484284) had 100% sequence similarity with the *rrnS* sequence of different *A. pegreffii* isolates (JX500050; *Stenella coeruleoalba*, Mediterranean Sea), (LC222461; *Scomber*

japonicus, Japan Sea), (JQ900764; human, Italy), (MF140359; *Conger myriaster*, China), (MT312511, MT312512; *Neophocaena asiaeorientalis*, South Korea). The *rrnS* sequence of *A. pegreffii* from the Aegean Sea (MT484284) was most similar to *A. pegreffii* (MT312513, MT312515-MT312518) (99.80%), *A. simplex* (99.59%, JN786323), *A. simplex* x *A. pegreffii* (99.37%, AB831878), *A. berlandi* (*A. simplex* C) (98.98%, JX500049), *A. ziphidarum* (96.54%, JX500053), *A. nascettii* (JX500054; 95.11%), *A. brevispiculata* (JX500056; 93.89%), *A. physeteris* (JX500055; 93.52), *A. paggiae* (JX500057; 93.27%), and *A. typica* (MT395672; 91.11%). Pairwise distance between the *rrnS* sequence of *A. pegreffii* from the Aegean Sea (MT484284) with those for other isolates *rrnS* sequences of *A. pegreffii* (MT312511-MT312518, JX500050) showed divergence levels ranging from 0.00 to 0.41%.

DISCUSSION

Current investigation provides the first molecular data of the *rrnS* gene of *Anisakis pegreffii* from the Turkish marine waters. To date, among ascaridoid nematodes, *Hysterothylacium aduncum*, *H. fabri*, *A. typica*, and *Contracaecum overstreeti* species from Turkish marine waters have been molecularly characterized based on mitochondrial *rrnS* gene (Pekmezci, 2019; Pekmezci & Yardimci, 2019; Pekmezci & Onuk, 2020; Simsek et al., 2021).

The mitochondrial *rrnS* gene sequence of adult *A. pegreffii* was obtained from *Stenella coeruleoalba* in the Adriatic and Tyrrhenian Sea and firstly recorded in the GenBank under accession number JX500050 by Mattiucci et al., (2014). Here, we report the second record of *A. pegreffii* *rrnS* sequence (MT484284) from Mediterranean Sea. However, there are eight unpublished data of *A. pegreffii* mitochondrial *rrnS* sequences (MT312511-MT312518) from *Neophocaena asiaeorientalis* in the South Korean waters.

Until now, nine *Anisakis* species have been genetically confirmed different gene loci worldwide (Mattiucci et al., 2018). Among these species, *A. berlandi* (JX500049), *A. pegreffii* (JX500050), *A. simplex* (JX500051), *A. typica* (JX500052; MT395672) *A. ziphidarum* (JX500053), *A. nascettii* (JX500054), *A. physeteris* (JX500055), *A. brevispiculata* (JX500056), *A. paggiae* (JX500057), and *A. simplex* x *A. pegreffii* (AB831878, unpublished data) had genetically characterized for *rrnS* gene, and their sequences were also recorded to GenBank (Mattiucci et al., 2014; Pekmezci & Onuk, 2020). The BLASTn search showed that the *rrnS* sequence of *A. pegreffii* isolate herein exhibits ranged from 91.11% to 99.59% similarity to those of *rrnS* sequences of

different *Anisakis* species (Mattiucci et al., 2014; Pekmezci & Onuk, 2020). Therefore, the mitochondrial *rrnS* gene can be used to differentiate among *Anisakis* species. Moreover, the genetic distance between our *rrnS* sequence of *A. pegreffii* (MT484284) and other isolates *rrnS* sequences of *A. pegreffii* (MT312511-MT312518) from South Korean waters was 0.41%. The genetic difference between two isolates belonging to the same species may be related to the isolates being obtained from different geographic areas far from each other.

CONCLUSION

Herein, the novel data of mitochondrial small ribosomal subunit RNA sequence of *A. pegreffii* from Turkish marine waters was achieved for the first time, and this novel *rrnS* data (MT484284) is a second data recorded in GenBank for *A. pegreffii* from the Mediterranean Sea. Furthermore, this novel *rrnS* sequence can be utilized for genetic analysis of ascaridoid nematodes from the Mediterranean Sea.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that they have no competing interests.

REFERENCES

- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, **215**, 403-410. DOI: [10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Berland, B. (1961). Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*, **2**, 1-50.
- D'Amelio, S., Barros, N.B., Ingrosso, S., Fauquier, D.A., Russo, R. & Paggi L. (2007). Genetic characterization of members of the genus *Contracaecum* (Nematoda: Anisakidae) from fish-eating birds from west-central Florida, USA, with evidence of new species. *Parasitology*, **134**, 1041-1051. DOI: [10.1017/S003118200700251X](https://doi.org/10.1017/S003118200700251X)
- D'Amelio, S., Mathiopoulos, K. D., Santos, C.P., Pugachev, O.N., Webb, S.C., Picanço, M. & Paggi, L. (2000). Genetic markers in ribosomal DNA for the identification of members of the genus *Anisakis* (Nematoda: Ascaridoidea) defined by polymerase-chain-reaction-based restriction fragment length polymorphism. *International Journal for Parasitology*, **30**(2), 223-226. DOI: [10.1016/s0020-7519\(99\)00178-2](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(99)00178-2)
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P. & Drummond, A. (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the

- organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, **28**(12), 1647-1649.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018).** MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology Evolution*, **35**, 1547-1549. DOI: [10.1093/molbev/msy096](https://doi.org/10.1093/molbev/msy096)
- Mattiucci, S. & Nascetti, G. (2008).** Advances and trends in the molecular systematics of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. *Advances in Parasitology*, **66**, 47-148. DOI: [10.1016/S0065-308X\(08\)00202-9](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(08)00202-9)
- Mattiucci, S., Cipriani, P., Levsen, A., Paoletti, M. & Nascetti, G. (2018).** Molecular epidemiology of *Anisakis* and Anisakiasis: an ecological and evolutionary road map. *Advances in Parasitology*, **9**, 93-263. DOI: [10.1016/bs.apar.2017.12.001](https://doi.org/10.1016/bs.apar.2017.12.001)
- Mattiucci, S., Cipriani, P., Webb, S. C., Paoletti, M., Marcer, F., Bellisario, B., Gibson, D. & Nascetti, G. (2014).** Genetic and morphological approaches distinguish the three sibling species of the *Anisakis simplex* species complex, with a species designation as *Anisakis berlandi* n. sp. for *A. simplex* sp. C (Nematoda: Anisakidae). *Journal of Parasitology*, **100**, 199-214. DOI: [10.1645/12-120.1](https://doi.org/10.1645/12-120.1)
- Pekmezci, G.Z. & Yardimci, B. (2019).** On the occurrence and molecular identification of *Contracaecum* larvae (Nematoda: Anisakidae) in *Mugil cephalus* from Turkish waters. *Parasitology Research*, **118**(5), 1393-1402. DOI: [10.1007/s00436-019-06278-x](https://doi.org/10.1007/s00436-019-06278-x)
- Pekmezci, G.Z. & Onuk, E.E. (2020).** Molecular characterization of *Anisakis typica* (Nematoda: Anisakidae) from the Mediterranean Sea coasts of Turkey: First mitochondrial *rns* sequence data. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(2), 241-244. DOI: [10.35229/jaes.738822](https://doi.org/10.35229/jaes.738822)
- Pekmezci, G.Z. (2019).** Molecular characterization of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Raphidascarididae) larvae infecting *Merlangius merlangus euxinus* (Linnaeus, 1758) from the Turkish Black Sea coast based on mitochondrial small subunit ribosomal RNA gene analysis. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, **30**(1), 64-69. DOI: [10.35864/evmd.562427](https://doi.org/10.35864/evmd.562427)
- Pekmezci, G.Z., Onuk, E.E., Bolukbas, C.S., Yardimci, B., Gurler, A.T., Acici, M. & Umur, S. (2014).** Molecular identification of *Anisakis* species (Nematoda: Anisakidae) from marine fishes collected in Turkish waters. *Veterinary Parasitology*, **201**, 82-94. DOI: [10.1016/j.vetpar.2014.01.005](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.01.005)
- Peter, A.J. & Maillard, C. (1988).** Larves d'ascarides parasites de poissons en Mediterranee occidentale. *Bulletin du Museum National d'histoire Naturelle*, **10** (Sect. A), 347-369.
- Simsek, E., Sürsal, N., Karademir, G.K. & Pekmezci, G.Z. (2021).** First molecular characterization of *Hysterothylacium fabri* larvae (Nematoda: Raphidascarididae) in the Mediterranean Sea based on the small subunit ribosomal RNA gene sequence. *Kocatepe Veterinary Journal*, **14**(1), 71-76. DOI: [10.30607/kvj.832003](https://doi.org/10.30607/kvj.832003)
- Zhu, X., Gasser, R.B., Podolska, M. & Chilton, N.B. (1998).** Characterization of anisakid nematodes with zoonotic potential by nuclear ribosomal DNA sequences. *International Journal for Parasitology*, **28**, 1911-1921. DOI: [10.1016/s0020-7519\(98\)00150-7](https://doi.org/10.1016/s0020-7519(98)00150-7)



Morphometric Analysis of Sagittal Otoliths in Coruh Trout (*Salmo coruhensis* Turan, Kottelat & Engin, 2010)^[*]

Recep YILDIZ Savaş YILMAZ*

Department of Biology, Faculty of Arts and Sciences, Ondokuz Mayıs University, Samsun, Turkey

Geliş/Received: 11.04.2021

Kabul/Accepted: 14.05.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

How to cite: Yıldız, R. & Yılmaz, S. (2021). Morphometric Analysis of Sagittal Otoliths in Coruh Trout (*Salmo coruhensis* Turan, Kottelat & Engin, 2010). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(2), 270-277.

Atf yapmak için: Yıldız, R. & Yılmaz, S. (2021). Çoruh Alabalığı (*Salmo coruhensis* Turan, Kottelat & Engin, 2010)'nda Sagittal Otolitlerin Morfometrik Analizi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(2), 270-277.

<https://orcid.org/0000-0001-6211-831X>
 <https://orcid.org/0000-0002-6979-6495>

*Corresponding author's:
Savaş YILMAZ
Department of Biology, Faculty of Sciences
and Arts, Ondokuz Mayıs University, Samsun,
Turkey
✉: savas.yilmaz@omu.edu.tr

Abstract: The Coruh trout (*Salmo coruhensis* Turan, Kottelat & Engin, 2010) is an anadromous species inhabit south and southeastern Black Sea basin. This study describes the allometric relationships between sagittal otolith (sagitta) measurements and total length (TL) of the Coruh trout collected from the Çam stream (Artvin, Turkey), and the length-weight relationship. A total of 82 individuals were caught with an electroshock device between May 2017 and April 2018. The length (L_0), height (H_0), weight (W_0), perimeter (P_0), and area (A_0) of the otolith were recorded for each specimen. Shape indices such as form factor, aspect ratio, circularity, roundness, rectangularity, ellipticity, surface density were calculated using these otolith measurements. Relationships between otolith variables and the somatic growth of fish were defined by the curvilinear function (power model). An analysis of covariance revealed that these relationships did not differ between the left and right sides, and between females and males. All regressions were highly significant ($P < 0.001$) and mean percent prediction error values were less than 7%. The relationships of L_0 , H_0 , W_0 , and P_0 against TL were negative allometric, while the TL- A_0 relationship was positive allometric. In the analysis of relationships between the otolith shape indices and TL, the values of form factor, roundness, and rectangularity indices decreased with fish somatic growth. In contrast, the circularity and surface density indices increased with fish body length. The length-weight relationship was obtained as $W = 0.0155 * TL^{2.87}$ for overall samples. The difference between the slopes of LWRs of females and males was found insignificant. This study provides the first comprehensive data on the sagittal otolith morphometry of *S. coruhensis*.

Keywords: Length-weight relationship, otolith morphometry, *Salmo coruhensis*, shape index.

Çoruh Alabalığı (*Salmo coruhensis* Turan, Kottelat & Engin, 2010)'nda Sagittal Otolitlerin Morfometrik Analizi

Öz: Çoruh Alabalığı (*Salmo coruhensis* Turan, Kottelat & Engin, 2010), Güney ve Güneydoğu Karadeniz havzasında yayılış gösteren anadrom bir türdür. Bu çalışma, Çam Deresi (Artvin, Türkiye)'nden toplanan *S. coruhensis*'in total boyu ile sagittal otolit (sagitta) ölçümleri arasındaki allometrik ilişkileri ve boy-ağırlık ilişkisini tanımlar. Mayıs 2017 ve Nisan 2018 tarihleri arasında elektroşok cihazı ile toplam 82 birey yakalandı. Her bir örnek için otolitin boyu (L_0), yüksekliği (H_0), ağırlığı (W_0), çevresi (P_0) ve alanı (A_0) kaydedildi. Otolit ölçümleri kullanılarak şekil faktörü, boy-yükseklik oranı, dairesellik, yuvarlaklık, dikdörtgensellik, ovallik, yüzey yoğunluğu gibi şekil indeksleri hesaplandı. Otolit değişkenleri ile balık somatik büyümesi arasındaki ilişkiler eğrisel fonksiyonla (power model) tanımlandı. Kovaryans analizi, bu ilişkilerin sol-sağ bölge ve dişi-erkek bireyler arasında farklılık göstermediğini ortaya çıkardı. Tüm ilişkiler oldukça önemliydi ($P < 0,001$) ve ortalama yüzde tahmin hatası değerleri %7'den azdı. TL- L_0 , TL- H_0 , TL- W_0 ve TL- P_0 ilişkileri negatif allometrik iken TL- A_0 ilişkisi pozitif allometrik çıktı. Otolit şekil indeksleri ile balık boyu arasındaki ilişkiler analiz edildiğinde; şekil faktörü, yuvarlaklık ve dikdörtgensellik indeksi değerleri balık somatik büyümesi ile azaldı. Buna karşılık dairesellik ve yüzey yoğunluğu indeksi değerleri balık vücut uzunluğu ile arttı. Tüm bireyler için boy-ağırlık ilişkisi $W = 0,0155 * TL^{2,87}$ olarak elde edildi. Dişi ve erkeklerin boy-ağırlık ilişkilerininin b parametresi arasındaki fark önemsiz bulundu. Bu çalışma, *S. coruhensis*'in sagittal otolit morfometrisi hakkında ilk kapsamlı verileri sağlar.

*Sorumlu yazar:
Savaş YILMAZ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat
Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Samsun, Türkiye
✉: savas.yilmaz@omu.edu.tr

Anahtar kelimeler: Boy-ağırlık ilişkisi, otolit morfometrisi, *Salmo coruhensis*, şekil indeksi.

^[*] This study was produced from the master thesis.

INTRODUCTION

The family Salmonidae, known as salmonids, is native to the Northern Hemisphere (Nelson, 2006). Most of the species belonging to the family have high economic value and are very important for the aquaculture sector (Geldiay & Balık, 2007). In worldwide, there is 12 valid genus of this family. Among these genera, *Salmo* is represented by 55 species (Fricke et al., 2021). The genus *Salmo* contains 16 species in Turkey, 12 of which are endemic to the country (Çiçek et al., 2020; Turan et al., 2020). *S. caspius*, *S. coruhensis* and *S. pelagonicus* are native but not endemic to Turkey (Kaya et al., 2020; Kuljanishvili et al., 2020; Turan & Bayçelebi, 2020), and *S. trutta* is an established non-native species occurs only Lake Van and upper Tigris drainages in eastern Anatolia (Kaya, 2020).

The Coruh trout *Salmo coruhensis*, Turan, Kottelat & Engin, 2010 is a native freshwater salmonid fish of Turkey. It is known from the area between the Yesilirmak drainage in the west and the Coruh drainage in the east. It is also recorded in Georgia, however, the locality did not specified (Kuljanishvili et al., 2020). This species lives in the lower and middle part of streams and rivers flowing to the south and southeastern Black Sea coasts in Turkey (Turan et al., 2010). *S. coruhensis* is under threat due to reasons such as habitat degradation and illegal fishing (Okumuş et al., 2006; Verep et al., 2016). It is classified in the "near threatened" category in the Red List of Endangered Species published by the International Union for Conservation of Nature (IUCN) (Freyhof, 2019). Protecting a native species like the Coruh trout necessitates an understanding of its biological and ecological characteristics (Verep et al., 2016). Studies on the biology and ecology of this new species are scarce, and only one paper about its length-weight relationship has been published (Mazlum & Turan, 2018).

The determination of identity, size, and mass of fish prey from the otoliths found in stomach contents or feces of piscivorous animals may provide significant contributions to available information about foods and feeding habits of these predators (Morley & Belchier, 2002; Pierce & Boyle, 1991). Many studies have documented the relationships between otolith morphometry and fish size (e.g. Altin & Ayyıldız, 2018; Battaglia et al., 2015; Harvey et al., 2000; Iranmanesh et al., 2020; Oliveira et al., 2019). However, a study on the relationships of otolith morphometric parameters with body size is unavailable for the Coruh trout. This study aims to obtain information on the relationships between the sagittal otolith measurements and somatic growth of the

Coruh trout, and the length-weight relationship, testing the hypothesis that such relationships may give useful predictive equations for estimating fish length and weight.

MATERIAL AND METHOD

Coruh trouts were collected from the Çam stream between May 2017 and April 2018. The Çam stream is located in the borders of the Kemalpaşa district of Artvin Province in the eastern Black Sea region of Turkey. It is formed by the confluence of streams coming from the slopes of İsirli and İncinar hills, situated on the Marnin area of Çamurlu village. In the lower parts, the Çam stream combines with the streams flowing from Kaya and Köprüce villages. It is poured into the Black Sea from the center of the Kemalpaşa district. Its total length from upstream to downstream is approximately 10.3 km (Anonymous, 2017). The specimens were caught by electrofishing (SAMUS 725MP electro-shocker). A total of 82 individuals (50 females and 32 males) were captured during the sampling period. All samples were kept in a freezer at -18 °C for further analysis. All frozen fish were thawed at room temperature, washed in tap water, and dried with a towel paper. Total length ($TL \pm 0.1$ cm), weight ($W \pm 0.01$ g), and sex of each specimen were recorded. The sagittal otoliths (sagittae) were removed, cleaned with distilled water, and stored dry in Eppendorf tubes. Otolith weight (W_o) was weighed to the nearest 0.01 mg. The left and right otoliths were photographed on the distal surface under a Leica S8APO binocular microscope connected with a Leica DFC295 digital camera and computer. The following otolith variables were measured using Leica Application Suit ver. 3.8 Image Analysis software: otolith length (L_o , mm), otolith height (H_o , mm), otolith perimeter (P_o , mm), and otolith area (A_o , mm²) (Figure 1). No measurements were taken from otoliths with broken or structural defects.

The relationships of otolith variables with a body length of the Coruh trout were determined by fitting a power equation $Y = aX^b$, where Y is otolith measurement, X is fish total length, a is the constant and b is the slope (Leonart et al., 2000). The parameters a and b were estimated by linear regression of the logarithmic transformation of the equation in question. These relationships were generated separately for both left and right otoliths of each sex, and the slopes of regressions were compared with the analysis of covariance (ANCOVA), otolith direction as the main factor, and TL as the covariate (Zar, 1999). When equation slopes did not differ statistically, a single regression was reported for each variable by choosing the left otolith measurements.

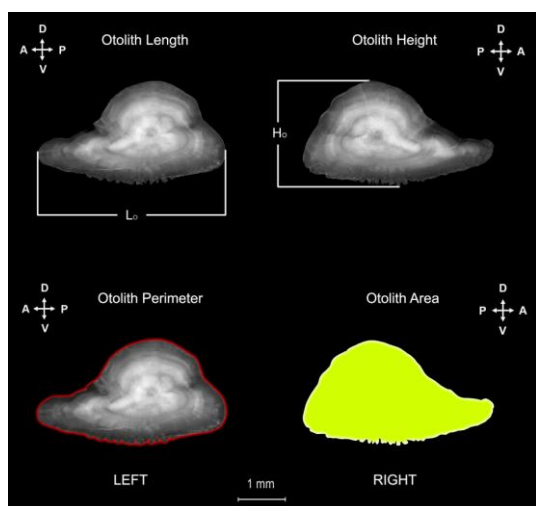


Figure 1. Distal view and morphometric measurements of the left and right otolith of the Coruh trout from the Çam stream, Artvin, Turkey (D, dorsal; V, ventral; A, anterior; P, posterior).

Similarly, the statistical differences in regression slopes between sexes were tested by the analysis of covariance, sex as the main factor, and TL as the covariate (Zar, 1999). When equation slopes did not differ statistically, a single regression was reported for each measurement by pooling the data of both sexes. The significance of the regressions was verified using *F*-test. The deviation of regression slopes from a value corresponding to isometry was checked by the *t*-test (Zar, 1999). The strength of each morphometric relationship was evaluated from the coefficient of determination (r^2) and the mean percent prediction error. The mean percent prediction error for a relationship is the average of the percent prediction error (%PE) values calculated for all specimens. The percent prediction error (%PE) for a specimen is obtained by using the following formula (Smith, 1980):

$$\% PE = \frac{|X_{Observed} - X_{Predicted}|}{X_{Predicted}} \times 100$$

The difference between the observed and predicted fish body length was checked for each otolith variable by using a *t*-test, and the Kruskal-Wallis test was used to compare the differences between %PE values of five otolith measurements (Zar, 1999).

In order to describe the otolith shape of the Coruh trout, the following shape indices were calculated using the left otolith measurements: form factor = $(4\pi A_o) / P_o^2$; aspect ratio = L_o / H_o ; circularity = P_o^2 / A_o ; roundness = $4A_o / (\pi L_o)^2$; rectangularity = $A_o / (L_o \times H_o)$; ellipticity = $(L_o - H_o) / (L_o + H_o)$; surface density = W_o / A_o . The biological meanings of these indices were explained in previous publications (Bani et al., 2013; He et al., 2020). The average values of shape indices calculated for female and male individuals were compared with the *t*-test or

Mann-Whitney U test (Zar, 1999). The correlations between the shape indices and fish body size were also examined.

The length-weight relationship (LWR) of Coruh trout from Çam stream was computed using the equation $W = aL^b$, where *W* is the total weight of the fish (g), *L* is the total length of the fish (cm), *a* and *b* are the parameters of the equation (Bagenal & Tesch, 1978). The parameters *a* and *b* were estimated by linear regression of logarithmic transformed length-weight data. The slopes (*b*) of LWRs of females and males were compared for the significant difference by the analysis of covariance (ANCOVA), sex as the main factor, and fish size as the covariate. The *t*-test was applied to confirm whether the slopes were significantly different from 3, indicating the growth type: isometric ($b = 3$), negative allometric ($b < 3$), or positive allometric ($b > 3$) (Zar, 1999).

RESULTS

The ANCOVA test showed no significant differences between the coefficients of the regressions generated for the left and right otoliths in each sex (TL vs L_o , $F = 0.001$, $P = 0.977$; TL vs H_o , $F = 0.210$, $P = 0.648$; TL vs W_o , $F = 0.096$, $P = 0.757$; TL vs P_o , $F = 0.138$, $P = 0.712$; TL vs A_o , $F = 0.001$, $P = 0.974$ for females and TL vs L_o , $F = 0.045$, $P = 0.832$; TL vs H_o , $F = 0.405$, $P = 0.527$; TL vs W_o , $F = 0.134$, $P = 0.716$; TL vs P_o , $F = 0.382$, $P = 0.539$; TL vs A_o , $F = 0.481$, $P = 0.491$ for males). Therefore, the left otoliths were chosen for subsequent analysis. No statistical differences were found between slopes of females and males for TL- L_o ($F = 2.364$, $P = 0.129$), TL- H_o ($F = 0.971$, $P = 0.328$), TL- W_o ($F = 0.294$, $P = 0.589$), TL- P_o ($F = 1.474$, $P = 0.229$) and TL- A_o ($F = 0.001$, $P = 0.977$). Thus, data of both sexes were combined. The descriptive statistics of fish and otolith measurements are given in Table 1.

Table 1. Descriptive statistics of the Coruh trouts and their sagittal otolith collected from the Çam stream, Artvin, Turkey.

Measurement	<i>n</i>	Mean ± SD	Min-Max
Fish length (cm)	82	15.58 ± 3.78	8.9–26.2
Fish weight (g)	82	47.68 ± 33.51	8.34–173.27
Otolith length (mm)	76	2.72 ± 0.51	1.85–3.91
Otolith height (mm)	76	1.59 ± 0.27	1.10–2.26
Otolith weight (mg)	76	2.19 ± 1.03	0.81–4.97
Otolith perimeter (mm)	76	7.19 ± 1.46	4.82–11.03
Otolith area (mm ²)	76	2.91 ± 0.97	1.43–5.31

n, sample size; SD, standard deviation; Min, minimum, Max, maximum

All relationships were highly significant ($P < 0.001$). In the analysis of morphometric measurements versus fish body length, the regression models explained more than 92% of the variance in all cases (Table 2). The variable most strongly related to fish size was the otolith area, with 94% of the variability. The relationships of L_o ,

H_O, W_O and P_O against TL were negative allometric (*t*-test, TL-A_O, *t* = -11.63, *P* = 0.000; TL-H_O, *t* = -14.83, *P* = 0.000; TL-W_O, *t* = -2.11, *P* = 0.038; TL-P_O, *t* = -8.92, *P* = 0.000), indicating that the growth of otolith length, height, weight and perimeter is relatively slower than fish length. In contrast, the TL-A_O relationship was positive allometric (*t*-test, *t* = 8.48, *P* = 0.000), demonstrating that the growth of otolith area is relatively faster than fish growth.

The mean percent prediction errors ranged from 5.24 to 6.12 (Table 2). For each of five otolith measurements, no considerable difference was found between observed and predicted TL values (*t*-test, L_O, *t* = -0.063, *P* = 0.950; H_O, *t* = -0.094, *P* = 0.925; W_O, *t* = -0.569, *P* = 0.570; P_O, *t* = -0.040, *P* = 0.968; A_O, *t* = -0.030, *P* = 0.976; d.f. = 150). The Kruskal-Wallis test showed that there was no significant difference between the mean %PE values of the otolith variables (*H* = 1.509, *P* = 0.825).

Table 2. Regression parameters of the relationships between otolith measurements and fish size, and the mean percent prediction error (%PE) value computed for each variable of the Coruh trout captured from the Çam stream, Artvin, Turkey.

Relationship	n	Regression Parameters			Observed TL (Mean ± SD)	Predicted TL (Mean ± SD)	%PE (Mean ± SD)
		a ± SE	b ± SE	r ²			
TL vs L _O	76	0.381 ± 0.025	0.721 ± 0.024	0.923	15.44 ± 3.88	15.48 ± 4.02	5.65 ± 4.89
TL vs H _O	76	0.252 ± 0.015	0.674 ± 0.022	0.925	15.44 ± 3.88	15.49 ± 3.96	5.82 ± 4.29
TL vs W _O	76	0.012 ± 0.002	1.867 ± 0.063	0.922	15.44 ± 3.88	15.80 ± 4.07	6.12 ± 4.38
TL vs P _O	76	0.861 ± 0.059	0.777 ± 0.025	0.927	15.44 ± 3.88	15.46 ± 4.01	5.52 ± 4.39
TL vs A _O	76	0.077 ± 0.008	1.322 ± 0.038	0.943	15.44 ± 3.88	15.46 ± 3.93	5.24 ± 3.49

n, sample size; a, constant; b, slope; r², coefficient of determination; SE, standart error; SD, standart deviation; PE, percent prediction error.

The mean values of seven shape indices are presented in Table 3. For each shape index, there was no significant difference between the mean values of females and males (*t*-test, rectangularity, *t* = -0.588, *P* = 0.558; surface density, *t* = 1.092, *P* = 0.279; Mann-Whitney U test, form factor, *U* = 686, *Z* = -0.043; *P* = 0.966; aspect ratio, *U* = 562, *Z* = -1.360; *P* = 0.174; circularity, *U* = 686, *Z* = -0.043; *P* = 0.966; roundness, *U* = 653, *Z* = -0.393; *P* = 0.694; ellipticity, *U* = 562, *Z* = -1.360; *P* = 0.174). In the analysis of relationships between the otolith shape indices and fish TL, no correlation is registered for aspect ratio (*r* = 0.183, *P* = 0.114) and ellipticity (*r* = 0.183, *P* = 0.114) indices (Figure 2). The values of form factor (*r* = -0.726, *P* = 0.000), roundness (*r* = -0.382, *P* = 0.001) and rectangularity (*r* = -0.478, *P* = 0.000) indices decrease with fish somatic growth, indicating the otolith becomes geometrically more irregular and less rounded (Figure 3). In contrast to this, the circularity (*r* = 0.726, *P* = 0.000) and surface density (*r* = 0.837, *P* = 0.000) indices increase with fish body length, demonstrating the otolith becomes more circular and thicker (Figure 4).

Table 3. Mean values of shape indices calculated using the left otolith measurements of the Coruh trout from the Çam stream, Artvin, Turkey.

Shape indices	n	Mean ± SD	Min–Max
Form factor	76	0.69 ± 0.05	0.54–0.78
Aspect ratio	76	1.71 ± 0.10	1.47–2.00
Circularity	76	18.08 ± 1.58	15.96–22.92
Roundness	76	0.49 ± 0.03	0.40–0.61
Rectangularity	76	0.65 ± 0.02	0.57–0.71
Ellipticity	76	0.26 ± 0.02	0.19–0.33
Surface density	76	0.71 ± 0.11	0.53–0.98

n, sample size; SD, standard deviation; Min, minimum, Max, maximum

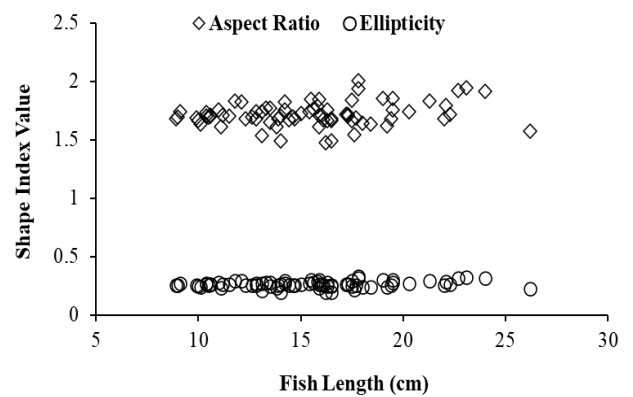


Figure 2. Relationships of aspect ratio and ellipticity indices with fish size in Coruh trout from the Çam stream, Artvin, Turkey.

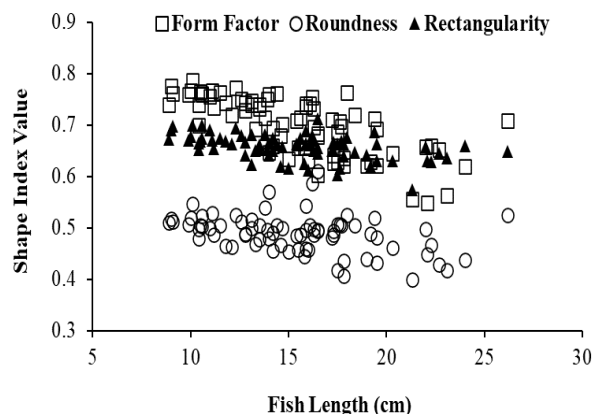


Figure 3. Negative correlations between three shape indices and body length of the Coruh trout from the Çam stream, Artvin, Turkey.

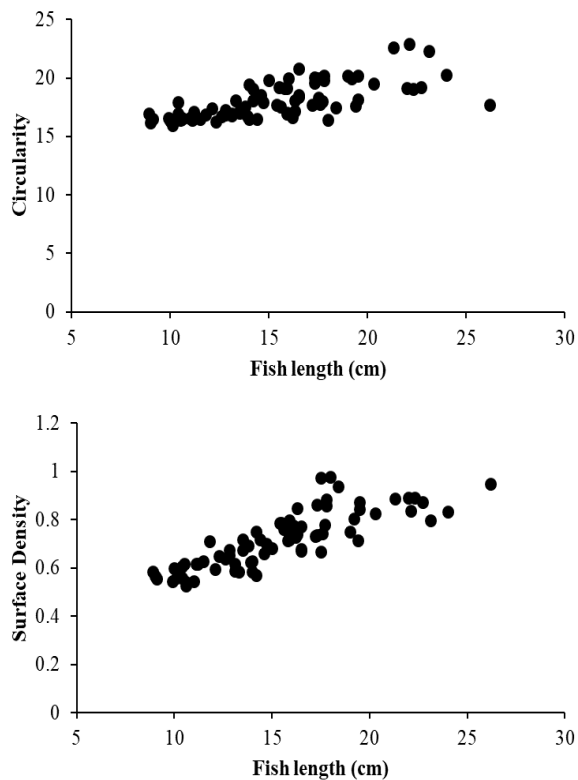


Figure 4. Positive correlations between two shape indices and somatic growth of the Coruh trout from the Çam stream, Artvin, Turkey.

The length-weight relationship of the Coruh trout from the Çam stream was obtained as $W = 0.0155 \cdot TL^{2.87}$ for overall samples ($n = 82$, $SE(b) = 0.032$, $r^2 = 0.99$). The difference between the slopes of LWRs of females and males was found insignificant (ANCOVA test, $F = 0.028$, $P = 0.867$). The variation in estimated b value from 3 was statistically significant (t -test, $t = -4.06$, $P = 0.000$). This result indicated that the growth of the Coruh trout inhabiting the Çam stream is negative allometric.

DISCUSSION AND CONCLUSION

As far as we know, this paper represents the first reference on the sagittal otolith morphometry of the Coruh trout. In the analysis of morphometric parameters versus body length of *S. coruhensis*, no significant differences between left and right otoliths and between otoliths of females and males were detected. The same results were also observed for *Lutjanus bengalensis* (Jawad et al., 2011), *Sardinella sindensis* (Dehghani et al., 2016), *Clarias gariepinus* (Yılmaz et al., 2019), and *Silurus glanis* (Yazıcı et al., 2020).

A simple linear model was preferred in many studies that revealed the relationships between otolith variables and fish size (Bal et al., 2018; Daban et al., 2020; Dortbudak & Ozcan, 2019; Nguyen & Dinh, 2020). Leonart et al. (2000) stated that the simple linear function

used in the explanation of these relationships is inaccurate for at least two reasons: it cannot distinguish shape heterogeneity and the independent parameter " a " makes no sense in morphometry, where Y must be 0 when $X=0$. Moreover, Campana (2004) reported that the above-mentioned relationships cannot always be explained by the linear regression model. Therefore, in our study, the allometric power equation was selected to describe the relationships between otolith growth and fish growth. Otolith parameters-body length relationships were previously defined using power models for various fish species (Kanjuh et al., 2018; Kumar et al., 2017; Romero et al., 2020; Saygın et al., 2020; Yılmaz et al., 2014; Yılmaz et al., 2015; Yılmaz et al., 2019).

In this study, the high coefficients of determination and low values of the mean percent prediction error for the relationships between otolith measurements and body length of the Coruh trout showed that fish size can be reliably estimated from otoliths. Similar results were detected in studies of Yılmaz et al. (2014), Yılmaz et al. (2015) and Yılmaz et al. (2019).

In our study, we found that the otolith length-fish length and otolith height-fish length relationships were negative allometric. The same findings were obtained by Yılmaz et al. (2014) for *Perca fluviatilis* from Lake Ladik, Yılmaz et al. (2019) for *Clarias gariepinus* from the upper basin of the Sakarya River, and Uyan et al. (2019) for *Nemipterus randalli* from Gökova Bay. In contrast, these relationships were determined as positive allometric for *Anguilla anguilla* from Adriatic catchment of Montenegro (Kanjuh et al., 2018) and four demersal species (*Genypterus brasiliensis*, *Acanthistius patachonicus*, *Pseudoperca semifasciata* and *Merluccius hubbsi*) from the San Matias Gulf, Argentina (Romero et al., 2020). Furthermore, we reported that the relationship between otolith weight and fish length for *S. coruhensis* was negative allometric. This phenomenon was also observed for other fish species such as *Acanthopagrus latus*, *Daysciaena albida*, *Ellochelon vaigiensis*, *Mugil cephalus*, and *Mystus gulio* (Qamar et al., 2019). On the other hand, a positive allometric growth pattern was reported by some authors (Kanjuh et al., 2018; Uyan et al., 2019; Yılmaz et al., 2014). In the current study, the otolith perimeter-fish length relationship was negatively allometric, which agrees with the results of Qamar et al. (2019) for three fish species. But, positive allometric growth was estimated for the relationship between the otolith area and fish length, which in contrast with the findings of Qamar et al. (2019) for five fish species.

In some previous studies (e.g. Bostancı et al., 2015; Zischke et al., 2016; Zorica et al., 2010), shape indices were correlated with otolith length. However, Pavlov (2016) stated that the shape indices are

comparatively independent of otolith length and they should be related to fish size. In our work, a significant correlation between each of the five shape indices and the total length of *S. coruhensis* is registered. These correlations indicate the existence of allometric otolith growth. Similar relationships between the shape indices of the otolith and fish body size are reported in some studies (e.g. Bostancı et al., 2017; Mérigot et al., 2007; Deepa et al., 2019; Pavlov, 2016).

S. coruhensis, which lives in the Çam stream, has shown negative allometric development based on the length-weight relationship. Mazlum & Turan (2018), on the other hand, found evidence of positive allometric growth ($b = 3.084$). According to Bagenal and Tesch (1978), length-weight relationships in fish change depending on the factors such as food availability, feeding rate, gonad development, and spawning period, all of which were not considered in this study.

In conclusion, it is recommended that the regressions provided in the present study be used within the fish size range limits declared, to prevent errors in the back-calculation of length and weight. Detailed examining the otolith morphology in populations inhabiting different environments of *S. coruhensis* is important for a better understanding of otolith development in this species. It is hoped that the findings of this study would be useful to researchers looking into the feeding habits of possible Coruh trout predators.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank Enes HANÇER and Aykut AYDIN for their assistance in sampling and laboratory processes.

REFERENCES

- Altın, A. & Ayyıldız, H. (2018).** Relationships between total length and otolith measurements for 36 fish species from Gökçeada Island, Turkey. *Journal of Applied Ichthyology*, **34**(1), 136-141. DOI: [10.1111/jai.13509](https://doi.org/10.1111/jai.13509)
- Anonymous, (2017).** Artvin Hopa-Kemalpaşa Çam Deresi Kemer Köprü ve Islahı Raporu. T. C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü 26. Bölge Müdürlüğü, Artvin.
- Bagenal, T.B. & Tesch, F.W. (1978).** Age and growth, In: Bagenal, T. (ed.), *Methods for assessment of fish production in freshwaters*, 101-136p, Blackwell Science Publications, Oxford, UK.
- Bal, H., Türker, D. & Zengin, K. (2018).** Morphological characteristics of otolith for four fish species in the Edremit Gulf, Aegean Sea, Turkey. *Iranian Journal of Ichthyology*, **5**(4), 303-311. DOI: [10.22034/iji.v5i4.312](https://doi.org/10.22034/iji.v5i4.312)
- Bani, A., Poursaeid, S. & Tuset, V.M. (2013).** Comparative morphology of the sagittal otolith in three species of South Caspian gobies. *Journal of Fish Biology*, **82**, 1321-1332. DOI: [10.1111/jfb.12073](https://doi.org/10.1111/jfb.12073)
- Battaglia, P., Malara, D., Ammendolia, G., Romeo, T. & Andaloro, F. (2015).** Relationships between otolith size and fish length in some mesopelagic teleosts (Myctophidae, Paralepididae, Phosichthyidae and Stomiidae). *Journal of Fish Biology*, **87**, 774-782. DOI: [10.1111/jfb.12744](https://doi.org/10.1111/jfb.12744)
- Bostancı, D., Polat, N., Kurucu, G., Yedier, S., Konaş, S. & Darçin, M. (2015).** Using otolith shape and morphometry to identify four *Alburnus* species (*A. chalcoides*, *A. escherichii*, *A. mossulensis* and *A. tarichi*) in Turkish inland waters. *Journal of Applied Ichthyology*, **31**(6), 1013-1022. DOI: [10.1111/jai.12860](https://doi.org/10.1111/jai.12860)
- Bostancı, D., Yedier, S., Konaş, S., Kurucu, G. & Polat, N. (2017).** Regional variation of relationship between total length and otolith sizes in the three *Atherina boyeri* Risso, 1810 populations, Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **34**(1), 11-16. DOI: [10.12714/egejfas.2017.34.1.02](https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.1.02)
- Campana, S.E. (2004).** *Photographic atlas of fish otoliths of the Northwest Atlantic Ocean*. NRC Research Press, Canada, 284p.
- Çiçek, E., Sungur, S. & Fricke, R. (2020).** Freshwater lampreys and fishes of Turkey; a revised and updated annotated checklist. *Zootaxa*, **4809**(2), 241-270.
- Daban, İ.B., İhsanoglu, M.A. & İşmen, A. (2020).** Relationships between body size-otolith size for seven demersal fish species from the Marmara Sea, Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **37**(3), 267-274. DOI: [10.12714/egejfas.37.3.09](https://doi.org/10.12714/egejfas.37.3.09)
- Deepa, K.P., Kumar, K.A., Kottnis, O., Nikki, R., Bineesh, K.K., Hashim, M., Saravanane, N. & Sudhakar, M. (2019).** Population variations of Opal fish, *Bembrops caudimacula* Steindachner, 1876 from Arabian Sea and Andaman Sea: Evidence from otolith morphometry. *Regional Studies in Marine Science*, **25**, 100466. DOI: [10.16/j.rsma.2018.100466](https://doi.org/10.16/j.rsma.2018.100466)
- Dehghani, M., Kamrani, E., Salarpouri, A. & Sharifian, S. (2016).** Otolith dimensions (length, width), otolith weight and fish length of *Sardinella sindensis* (Day, 1878), as index for environmental studies, Persian Gulf, Iran. *Marine Biodiversity Records*, **9**(44), 1-6. DOI: [10.1186/s41200-016-0039-0](https://doi.org/10.1186/s41200-016-0039-0)
- Dortbudak, M.Y. & Ozcan, G. (2019).** Otolith-body length relationship of Abu Mullet (*Planiliza abu* (Heckel, 1843)) in Tigris River, Şırnak, Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, **28**(10), 7088-7091.
- Freyhof, J. (2019).** *Salmo coruhensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e.T19516809A19849589, Accessed:25.03.2021,

- <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-1.RLTS.T19516809A19849589.en>.
- Fricke, R., Eschmeyer, W.N. & Van der Laan, R. (2021).** Eschmeyer's Catalog of Fishes: Genera, Species, References. Accessed: 15. 03. 2021, <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>.
- Geldiay, R. & Balık, S. (2007).** *Türkiye tatlısu balıkları, 5. baskı*, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:46, Bornova, İzmir, 644p.
- Harvey, J.T., Loughlin, T.R., Perez, M.A. & Oxman, D.S. (2000).** Relationship between fish size and otolith length for 63 species of fishes from the Eastern North Pacific Ocean (Report No. 150). NOAA Technical Report NMFS 150, U.S. Department of Commerce Seattle, Washington, 36p.
- He, T., Chen, C.J., Qin, J.G., Li, Y., Wu, R.H. & Gao, T.X. (2020).** The use of otolith shape to identify stocks of Redlip Mullet, *Liza haematocheilus*. *Pakistan Journal of Zoology*, **52**(6), 2265-2273.
- Iranmanesh, M., Hesni, M.A. & Lashkari, M. (2020).** Otolith measurements to estimate standard length of gobiid fish (Teleostei: Gobiiformes) from the Persian Gulf and Oman Sea. *Indian Journal of Fisheries*, **67**(4), 138-142. DOI: [10.21077/ijf.2020.67.4.97732-16](https://doi.org/10.21077/ijf.2020.67.4.97732-16)
- Jawad, L., Al-Mamry, J. & Al-Busaidi, H. (2011).** Relationship between fish length and otolith length and width in the lutjanid fish, *Lutjanus bengalensis* (Lutjanidae) collected from Muscat City coast on the Sea of Oman. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, **17**(2), 116-126.
- Kanjuh, T., Mrdak, D., Piria, M., Tomljanovic, T., Joksimovic, A., Talevski, T. & Milosevic, D. (2018).** Relationships of otolith dimension with body length of European eel *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758) from Adriatic catchment of Montenegro. *Acta Adriatica*, **59**(1), 91-96. DOI: [10.32582/aa.59.1.74](https://doi.org/10.32582/aa.59.1.74)
- Kaya, C. (2020).** The First Record and Origin of *Salmo trutta* Populations Established in the Upper Tigris River and Lake Van Basin, Eastern Anatolia (Teleostei: Salmonidae). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(3), 366-372. DOI: [10.35229/jaes.777575](https://doi.org/10.35229/jaes.777575)
- Kaya, C., Bayçelebi, E. & Turan, D. (2020).** Taxonomic assessment and distribution of fishes in upper Kura and Aras river drainages. *Zoosystematics and Evolution*, **96**(2), 325-344. <https://doi.org/10.3897/zse.96.52241>
- Kuljanishvili, T., Epitashvili, G., Freyhof, J., Japoshvili, J. B., Kalous, L., Levin, B., Mustafayev, N., Ibrahimov, S., Pipoyan, S. & Mumladze, L. (2020).** Checklist of the freshwater fishes of Armenia, Azerbaijan and Georgia. *Journal of Applied Ichthyology*, **36**(4), 501-514. DOI: [10.1111/jai.14038](https://doi.org/10.1111/jai.14038)
- Kumar, K. V., Deepa, K. P., Hashis, M., Vasu, C. & Sudhakar, M. (2017).** Relationship between fish size and otolith size of four bathydemersal fish species from the South eastern Arabian Sea, India. *Journal of Applied Ichthyology*, **33**, 102-107. DOI: [10.1111/jai.13250](https://doi.org/10.1111/jai.13250)
- Lleonart, J., Salat, J. & Torres, G.J. (2000).** Removing allometric effects of body size in morphological analysis. *Journal of Theoretical Biology*, **205**, 85-93.
- Mazlum, R. E. & Turan, D. (2018).** Length-weight relationship for twelve species of the genus *Salmo* L., 1758 (Actinopterygii: Salmonidae) from inland waters of Turkey. *Acta Zoologica*, **70**(3), 407-413.
- Mérigot, B., Letourneur, Y. & Lecomte-Finiger, R. (2007).** Characterization of local populations of the common sole *Solea solea* (Pisces, Soleidae) in the NW Mediterranean through otolith morphometrics and shape analysis. *Marine Biology*, **151**, 997-1008. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0549-0>
- Morley, S. & Belchier, M. (2002).** Otolith and body size relationships in bigeye grenadier (*Macrourus holotrachys*) in Ccamlr Subarea 48.3. *Ccamlr Science*, **9**, 133-143.
- Nelson, J. S. (2006).** *Fishes of the world* (Fourth Edition). John Wiley and Sons, Incorporated, 601, Canada.
- Nguyen, T.H.D. & Dinh, Q.M. (2020).** Otolith dimensions and their relationship with the size of *Glossogobius sparsipapillus* fish along the coastline of Mekong Delta, Vietnam. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, **24**(2), 525-533.
- Okumuş, İ., Kurtoğlu, İ.Z. & Atasaral, Ş. (2006).** General overview of Turkish sea trout (*Salmo trutta* L.) populations, In: Harris, G. and Milner, N. (eds.), *Sea trout: biology, conservation and management, 1st ed.*, 115-127p, Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Oliveira, R.R.de S., Andrade, M.C., Machado, F.S., Cunha, É.J.S., Freitas, F.S.de, Klautau, A.G.C. de M., Giarrizzo, T. & Saint-Paul, U. (2019).** Biometric relationships between body size and otolith size in 15 demersal marine fish species from the northern Brazilian coast. *Acta Amazonica*, **49**(4), 299-306.
- Pavlov, D. A. (2016).** Differentiation of three species of the genus *Upeneus* (Mullidae) based on otolith shape analysis. *Journal of Ichthyology*, **56**(1), 37-51. DOI: [10.1134/S0032945216010094](https://doi.org/10.1134/S0032945216010094)
- Pierce, G. J. & Boyle, P.R. (1991).** A review of methods for diet analysis in piscivorous marine mammals. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, **29**, 409-486.
- Qamar, N., Panhwar, S.K., Awan, K.P. & Farooq, N. (2019).** Numerical expressions of otolith shape and morphometric relationships for five fish species in tidal-linked lagoons in the northern Arabian Sea. *Lakes & Reservoirs: Research & Management*, **24**(4), 354-361. DOI: [10.1111/re.12288](https://doi.org/10.1111/re.12288)

- Romero, M.A., Ruiz, N.S., Medina, A.I. & González, R.A. (2020). Biometric Relationships between Otolith and Fish Size of the Main Demersal Resources of North Patagonia, Argentina. *Journal of Ichthyology*, **60**(3), 411-421. DOI: [10.1134/S0032945220030157](https://doi.org/10.1134/S0032945220030157)
- Saygın, S., Özpiçak, M., Yılmaz, S. & Polat, N. (2020). Otolith shape analysis and the relationships between otolith dimensions–total length of European Bitterling, *Rhodeus amarus* (Cyprinidae) sampled from Samsun Province, Turkey. *Journal of Ichthyology*, **60**(4), 570-577. DOI: [0.1134/S0032945220040190](https://doi.org/10.1134/S0032945220040190)
- Smith, R.J. (1980). Rethinking allometry. *Journal of Theoretical Biology*, **87**, 97-111.
- Turan, D. & Bayçelebi, E. (2020). First record of *Salmo pelagonicus* Karaman, 1938 (Teleostei: Salmonidae) in the Karamenderes River, Turkey. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(4), 551-555. DOI: [0.35229/jaes.777776](https://doi.org/10.35229/jaes.777776)
- Turan, D., Kalaycı, G., Bektaş, Y., Kaya, C. & Bayçelebi, E. (2020). A new species of trout from the northern drainages of Euphrates River, Turkey (Salmoniformes: Salmonidae). *Journal of Fish Biology*, **96**(6), 1454-1462. DOI: [10.1111/jfb.14321](https://doi.org/10.1111/jfb.14321)
- Turan, D., Kottelat, M. & Engin, S. (2009). Two new species of trouts, resident and migratory, sympatric in streams of northern Anatolia (Salmoniformes: Salmonidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, **20**(4), 333-364.
- Uyan, U., Jawad, L.A., Filiz, H., Tarkan, A.S. & Çelik, M. (2019). Fish length and otolith size of in *Nemipterus randalli* Russel, 1986 (Actinopterygii: Perciformes: Nemipteridae) collected from Gökova Bay, Turkey. *Thalassia Salentina*, **41**, 137-146.
- Verep, B., Turan, D., Bilgin, S., Terzi, E., Kaya, C. & Mutlu, T. (2016). Rize akarsu havzalarında doğal alabalık stoklarının bolluğu, antropojenik süreçler ve hidro- elektrik santrallerle etkileşimleri. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, **1**(2), 56-63.
- Yazıcı, R., Yazıcıoğlu, O. & Yılmaz, M. (2020). Otolith morphometry of wels catfish, *Silurus glanis* L., 1758. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, **6**(3), 215-222. DOI: [10.17216/limnofish.717925](https://doi.org/10.17216/limnofish.717925)
- Yılmaz, S., Emiroğlu, Ö., Aksu, S., Başkurt, S. & Polat, N. (2019). Relationships between otolith dimensions and body growth of North African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) from the upper basin of the Sakarya River, Turkey. *Croatian Journal of Fisheries*, **77**(1), 57-62. DOI: [10.2478/cjf-2019-0006](https://doi.org/10.2478/cjf-2019-0006)
- Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O., Saygın (Ayaydın), S. & Polat, N. (2014). Relationships of the otolith dimensions with body length of European perch, *Perca fluviatilis* L., 1758 from Lake Ladik, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, **46**(5), 1231-1238.
- Yılmaz, S., Yazıcıoğlu, O., Yazıcı, R. & Polat, N. (2015). Relationships between fish length and otolith size for five cyprinid species from Lake Ladik, Samsun, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, **39**(3), 438-446. DOI: [10.3906/zoo-1403-58](https://doi.org/10.3906/zoo-1403-58)
- Zar, J.H. (1999). *Biostatistical analysis (Third Edition)*, Prentice Hall, New Jersey, USA, 663p.
- Zischke, M.T., Litherland, L., Tilyard, B.R., Stratford, N.J., Jones, E.L. & Wang, Y.G. (2016). Otolith morphology of four mackerel species (*Scomberomorus* spp.) in Australia: Species differentiation and prediction for fisheries monitoring and assessment. *Fisheries Research*, **176**, 39-47.
- Zorica, B., Sinovčić, G. & Čikeš Keč, V. (2010). Preliminary data on the study of otolith morphology of five pelagic fish species from the Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, **51**(1), 89-96.



Model Organizma *Galleria mellonella* L.'da Bakır Nanopartiküllerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi

Benay TUNÇSOY

Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Adana, Türkiye

Geliş/Received: 25.02.2021

Kabul/Accepted: 28.04.2021

Yayın/Published: 30.06.2021

Atf yapmak için: Tunçsoy, B. (2021). Model Organizma *Galleria mellonella* L.'da Bakır Nanopartiküllerinin Oksidatif Stres Üzerine Etkilerinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(5), 278-284.

How to cite: Tunçsoy, B. (2021). Evaluation of the Effects of Copper Nanoparticles on Oxidative Stress in the Model Organism *Galleria mellonella* L. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(5), 278-284.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-4361-3475>

***Sorumlu yazarın:**

Benay TUNÇSOY
Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji
Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Biyomühendislik Bölümü, Adana, Türkiye
✉: btuncsoy@atu.edu.tr

Öz: Yapılan çalışmada farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerinin (10, 100 ve 1000 µg/mL) *Galleria mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), glutasyon-s-transferaz (GST) ve asetilkolinesteraz (AChE) aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokularında tüm uygulama gruplarında CAT, SOD ve AChE aktivitelerinde azalma tespit edilirken, 100 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulaması yapılan grupta GPx aktivitelerinde artış meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca GST aktivitesinde tüm uygulama gruplarında yağ dokuda azalma, orta barsakta ise artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Genel olarak, bu bulgular, *G. mellonella* larvalarında bakır oksit nanopartikülünün toksisitesi sonucunda reaktif oksijen türlerinin birikimi nedeniyle oksidatif stresin meydana geldiğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan enzimler, bakır nanopartikülleri, *Galleria mellonella*.

Evaluation of the Effects of Copper Nanoparticles on Oxidative Stress in the Model Organism *Galleria mellonella* L.

Abstract: In this study, the effects of copper oxide nanoparticles at different concentrations (10, 100 and 1000 µg/mL) on catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), glutathione-s-transferase (GST) and acetylcholinesterase (AChE) activities were investigated in the midgut and fat body of *Galleria mellonella* larvae. It was determined that GPx activities increased in the group exposed to 100 µg/mL copper oxide nanoparticles, whereas a decrease in CAT, SOD and AChE activities was observed in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to all copper oxide nanoparticles applied groups. Moreover, GST activity decreased in fat body in all applied groups, while an increased was observed in midgut of *G. mellonella* larvae when exposed to copper oxide nanoparticles. Overall, these findings indicate that oxidative stress occurs due to the accumulation of reactive oxygen species as a result of the toxicity of the copper oxide nanoparticle of *G. mellonella* larvae.

***Corresponding author's:**

Benay TUNÇSOY
Adana Alparslan Turkes Science and
Technology University,
Faculty of Engineering,
Department of Bioengineering, Adana,
Turkey.
✉: btuncsoy@atu.edu.tr

Keywords: Antioxidant enzymes, copper nanoparticles, *Galleria mellonella*.

GİRİŞ

Bakır nanopartikülleri biyosidal aktivite ve optik görüntüleme gibi özelliklerinden dolayı son yıllarda önemli ölçüde ilgi görmekte, özellikle biyomedikal ve endüstriyel uygulamalarda sıklıkla bu nanopartiküllerden yararlanılmaktadır. Buna ek olarak, yüksek elektriksel ve sıcaklık iletkenliği gibi fizikokimyasal özelliklerinden dolayı termal, elektrikli cihazlarda ve sensörlerde kullanılmaktadır (Hannig vd., 2007; Nations vd., 2015; Zhou vd., 2016). Buna rağmen farklı deneysel model sistemlerde yüksek toksisiteye neden olduğu da bilinmektedir.

Metal oksit nanopartikülleri, oksidatif strese ve hücrel toksisiteye yol açan normal hücrel aktivitelerin dereglasyonuna neden olmaktadır. Bu nedenle, oksidatif stres nanotoksitenin en önemli nedenlerinden biri olarak kabul edilmekte ve nanopartiküllerin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde biyoindikatör olarak kullanılmaktadır (Libralato vd., 2017).

Bakır maruziyetinin önemli ölçüde hücre içi reaktif oksijen türlerinin birikimine yol açtığı farklı hücre kültürü modelleri ile zebra balığı, karides gibi akuatik model organizmalarda da toksik etkilere neden olduğu yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (Ivask vd., 2014). Buna ek olarak, A549 hücrelerinde bakır oksit nanopartiküllerinin oksidatif stresle ilişkili olan sistein, glutasyon, disülfür gibi metabolitlerin düzenlenmesini indüklediği ve GPx, SOD, GST, lipid peroksidasyon ve CAT gibi antioksidan ve detoksifikasyon enzimlerinin aktivitelerinin fare hipokampal H122 hücrelerinde değişikliklere de neden olduğu bildirilmiştir (Boyles vd., 2016; Niska vd., 2015). Böceklerde ise, reaktif oksijen türlerinin oluşumunun artması, mideye alınan besinlerin absorpsiyonunu olumsuz etkilemekte ve orta barsak hücrelerinde de oksidatif zarara neden olabilmektedir (Bi & Felton, 1995).

Deneyde kullanılan büyük bal mumu güvesi *Galleria mellonella*, son yıllarda birçok alanda deneysel çalışmalarda model organizma olarak kullanılmaktadır. Tıp alanındaki deneysel çalışmalarda kullanılan farenin yetiştirilmesinin zor ve pahalı olması, ayrıca etik ve legal sorunlara yol açması model organizma olarak omurgasızların kullanılmasına olanak sağlamaktadır. *G. mellonella* gibi türler, üretimi basit ve pahalı olmamasından dolayı iyi bir model organizmadır. Ayrıca bu türe ait larvaların ticari yönden üretime uygun olması, oda sıcaklığında üretiminin kolaylıkla ve kısa sürede yapılabilmesi bu türü diğer omurgasız canlılardan da ayırt etmektedir. Bunun yanı sıra, *G. mellonella*'nın memelilerle benzer doğal bağışıklık sistemine sahip olması da onun uygun bir model organizma olabilmesini sağlamaktadır. Bu bilgiler ışığında, çalışmada kullanımı

hızla artan bakır oksit nanopartikülünün model organizma olarak kullanılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokularında antioksidan sistem üzerine etkilerinin belirlemek amacıyla SOD, CAT, GPx, GST ve AChE enzim aktivitelerinin tespit edilmesi hedeflenmektedir.

MATERYAL VE METOT

Deney Böceklerinin Elde Edilmesi: Bu çalışmada kullanılan *G. mellonella* kültürünün devamı, 30±1°C sıcaklık ve % 65±5 bağıl nem içeren böcek kültür odalarında, böceğin yumurtadan yeni çıkmış larvalarının yarı sentetik besin ile beslenmesiyle sağlanmıştır.

G. mellonella larvalarının beslenmesi için kepek, gliserin, bal, saf su ve petekten oluşan besin karışımı kullanılmıştır (Bronskill, 1961). Hazırlanan besin, bir litrelik kavanozlara yaklaşık 1/3 oranında konulduktan sonra, içerisine 10-15 adet ergin dişi ve erkek bireyler bırakılmıştır. Kavanozların kapaklarına dişilerin yumurta bırakmalarını sağlamak amacıyla bırakılan kâğıtlar, güneşini değiştirilerek içerisinde yeni besin bulunan farklı kavanozlara aktarılmıştır. Gelişimlerini üçüncü evreye kadar tamamlayan larvalar, besin ortamından alınarak deneylerde kullanılmıştır.

Bakır oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu: Deneylerde partikül büyüklüğü 50 nm'den küçük olan bakır oksit nanopartikülü (Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Çalışmada *G. mellonella* larvalarına uygulanan bakır oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu, Portekiz'de Algarve University, Faculty of Science and Technology (CIMA)'da transmisyon elektron mikroskobu (TEM) ve dinamik ışık saçılımı (DLS) cihazı ile yapılmıştır. Karakterizasyon yöntemlerine ilişkin daha fazla ayrıntı önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Gomes vd., 2011; Sezer Tuncsoy vd., 2019; Sezer Tuncsoy, 2020).

Farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerinin uygulanması: Besin ortamından alınacak üçüncü evre larvalar, kontrol grubu ve uygulama grupları olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Uygulama gruplarındaki larvaların, bakır oksit nanopartiküllerinin 10, 100 ve 1000 µg/mL derişimlerini içeren besin içerisinde beslenmeleri sağlanmıştır. Uygulama yapılan her bir gruba 40 adet larva eklenmiştir. Deneyler değişik zamanlarda üçer kez tekrar edilmiş ve bir deney serisinde elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırmak suretiyle değerlendirilmiştir.

Antioksidan enzim aktivitelerinin tayini: Uygulamadan sonra kontrol ve uygulama gruplarından 10'ar adet larva diseksiyon için seçilmiştir. Larvalar buz üzerinde 2-3 dakika bekletildikten sonra, % 95 etil alkol ile dezenfekte edilmiştir. Larvalar sırt kısmı strafora gelecek şekilde sabitlenerek birinci çift torasik bacaklarının

önünden orta eksen boyunca uzunlaşmasına mikro makas (Bahadır, düz makas, 16 cm) yardımıyla kesilmiştir. İlk önce yağ doku (fat body) bir pens yardımıyla izole edilmiş, daha sonra ön, orta ve son barsak olmak üzere üç bölümden oluşan sindirim kanalından orta barsak ayrılmıştır. İzole edilen yağ doku ve orta barsak, içerisinde homojenizasyon tamponu (20 mM; pH 7.6) bulunan ependorf tüplere aktarılmıştır.

Daha sonra Ultra Torrax cihazında dokular homojenize edilmiştir. Yağ dokunun homojenizasyonunda ise, 50 W, 40-50 s' de ultrasonik homojenizatör (Bandelin Sonoplus. HD 2070, Berlin, Almanya) kullanılmıştır. Homojenatlar, 500xg' de 15 dakika (+4°C) santrifüj edilmiş daha sonra süpernatantlar, mitokondriyal fraksiyona katılmak için 45 dakika (4 °C) boyunca 12,000 x g' de yeniden santrifüj yapılmıştır. Sitosolik fraksiyon, düşük moleküler ağırlıklı proteinleri uzaklaştırmak için Sephadex® G-25 (PD10, Pharmacia) jel kolonları üzerinde saflaştırılmıştır (Gonzalez-Rey vd., 2014). Örnekler enzim aktivitelerinin tayini işlemlerine kadar -80°C' de bekletilmiştir.

Antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT ve GPx) sırasıyla McCord & Fridovich (1969), Greenwald, (1985) ve Lawrence & Burk (1976) 'a göre tespit edilmiştir. AChE aktivitesini belirlemek için, orta barsak ve yağ doku, % 10 Triton içeren Tris-HCl tamponu (100 mM, pH 8.0) içinde buz üzerinde homojenize edilmiştir. Daha sonra 12.000 x g' de 30 dakika (4 °C) santrifüj edilmiştir. AChE aktivitesi, Ellman vd. (1961) tarafından uygulanan metot kullanılarak belirlenmiştir. GST aktivitesi, Habig vd. (1974) yöntemine göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Protein miktarının tespitinde ise, substrat olarak Bovine serum albümini kullanılarak Bradford (1976) yöntemine göre belirlenmiştir.

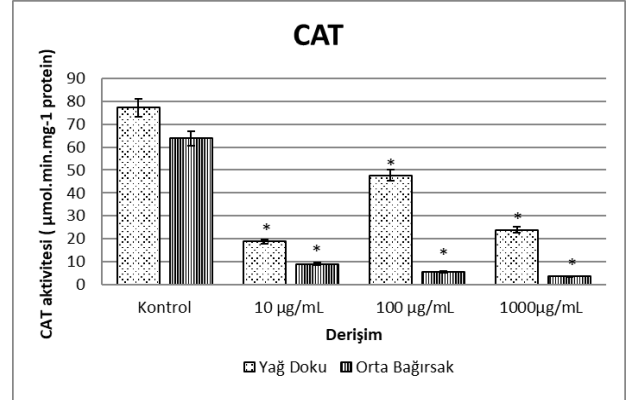
İstatistiksel analiz: Kontrol grubu ve bakır oksit nanopartikülleri uygulanmış gruplar arasındaki istatistiksel veriler SPSS 21 programında Student Newman Keul's (SNK) testi kullanılarak değerlendirilmiştir. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Bakır oksit nanopartiküllerinin karakterizasyonu: Çalışmada kullanılan bakır oksit nanopartikülleri boyut ve şekilsel analizleri TEM, DLS ve ELS yöntemleri ile belirlenmiştir. Karakterizasyona ait veriler Tunçsoy vd. (2019) ayrıntılı olarak verilmiştir.

Bakır oksit nanopartiküllerinin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi: Bakır oksit nanopartiküllerinin farklı derişimlerinin *G. mellonella* larvalarının yağ doku ve orta barsağındaki CAT aktivitesi üzerine etkileri Şekil 1' de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre hem yağ doku hem de orta barsaktaki tüm

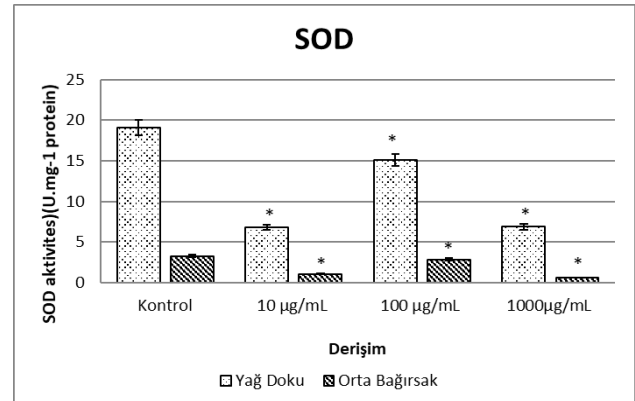
uygulama gruplarında (10, 100 ve 1000 µg/mL) CAT aktivitesinde önemli bir azalma meydana geldiği belirlenmiştir. Orta barsak ve yağ dokuda 10 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda CAT aktivitesi sırasıyla % 85,8 ve % 75,5 oranlarında azalırken, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikül uygulaması yapılan gruplarda bu azalma sırasıyla % 94,2 ve % 69 olarak tespit edilmiştir.



Şekil 1. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki CAT aktivitesi. SNK testine göre "*" ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. ($P < 0,05$).

Figure 1. CAT activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with "*" ($P < 0.05$).

Elde edilen verilere göre bakır oksit nanopartikülünün farklı konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki SOD aktivitesine olan etkileri Şekil 2'de verilmiştir.



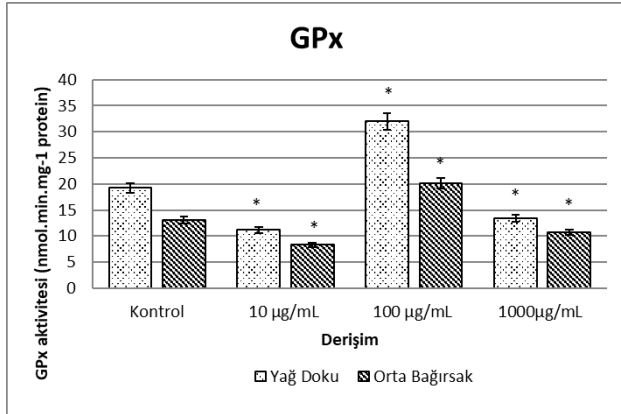
Şekil 2. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki SOD aktivitesi. SNK testine göre "*" ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur ($P < 0,05$).

Figure 2. SOD activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with "*" ($P < 0.05$).

İstatistiksel verilere göre larvaların her iki dokusundaki SOD aktivitesi de tüm uygulama gruplarında

(10, 100 ve 1000 µg/mL) kontrole göre istatistiki olarak anlamlı bir azalma göstermiştir. Orta barsak ve yağ dokuda 10 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda SOD aktivitesi sırasıyla % 68 ve % 64,5 oranlarında azalırken, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikül uygulaması yapılan gruplarda bu azalma sırasıyla % 80,6 ve % 64,2 olarak belirlenmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda uygulanan bakır oksit nanopartikülünün *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki GPx aktivitesindeki değişimler Şekil 3’ de verilmiştir. Elde edilen istatistiki verilere göre 10 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda kontrole göre orta barsak ve yağ dokuda sırasıyla % 36,2 ve % 42 oranlarında önemli bir azalma gözlenirken, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan gruplarda bu azalma sırasıyla % 18,2 ve % 30,5 olarak belirlenmiştir. 100 µg/mL uygulama grubunda ise her iki dokuda da sırasıyla % 54,3 ve % 66,6 oranlarında anlamlı bir artış meydana geldiği tespit edilmiştir.



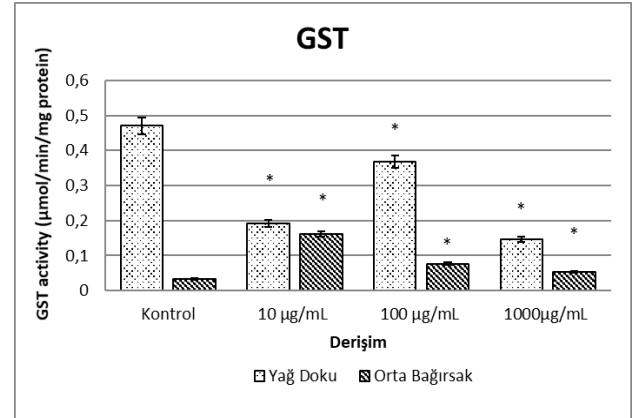
Şekil 3. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki GPx aktivitesi. SNK testine göre “*” ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. (P < 0,05).

Figure 3. GPx activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with “*” (P < 0.05).

Bakır oksit nanopartikülünün *G. mellonella* larvalarının yağ doku ve orta bağırsağındaki GST enzim aktivitesindeki değişimler Şekil 4’ de gösterilmiştir. GST aktivitesinde 100 ve 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikül uygulaması sonucunda istatistiki açıdan önemli bir artış meydana gelirken, yağ dokuda tüm uygulama gruplarında azalma meydana geldiği tespit edilmiştir. Orta barsakta meydana gelen GST aktivitesindeki artış 100 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan grupta % 133,3, 1000 µg/mL bakır oksit nanopartikülü uygulanan grupta ise % 60,6 oranında artmıştır.

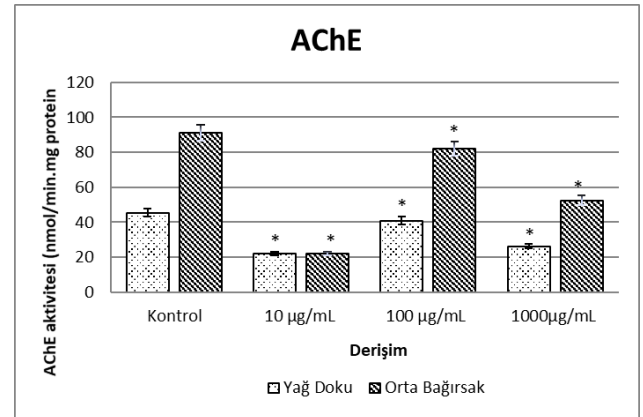
AChE aktivitesinde istatikselsel olarak her iki dokuda da kontrole göre tüm uygulama gruplarında (10, 100 ve 1000 µg/mL) azalma meydana geldiği belirlenmiştir (Şekil 5). Bu azalma orta barsakta tüm

uygulama gruplarında sırasıyla % 76, % 10 ve % 42,4 olarak tespit edilirken, yağ dokuda ise sırasıyla % 51,7, % 9,78 ve % 42,1 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki GST aktivitesi. SNK testine göre “*” ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. (P < 0,05).

Figure 4. GST activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with “*” (P < 0.05).



Şekil 5. Bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusundaki AChE aktivitesi. SNK testine göre “*” ile gösterilenler arasında istatistiksel bir fark bulunmuştur. (P < 0,05).

Figure 5. AChE activity in midgut and fat body of *G. mellonella* larvae exposed to CuO NPs. According to the SNK test, a statistical difference was found between those indicated with “*” (P < 0.05).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyolojik zarlardan kolaylıkla geçebilen metal nanopartiküller, DNA hasarı, oksidatif stres, membran hasarı ve moleküler düzeyde organ, doku ve hücrede protein yanlış katlanması gibi olumsuz etkilere neden olabilmektedirler (Aschberger vd., 2011; Schrand vd., 2010). Serbest radikaller, vücutta sürekli olarak oluşan ve antioksidan savunma sistemi tarafından yok edilen moleküllerdir ve canlılardaki bu zararlı radikallere karşı

vücutta gelişen bazı enzimatik sistemler vardır. SOD, CAT, GPx gibi enzimler, ağır metal toksisitesinin neden olduğu serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı vücudu korumaktadır. Bu gibi biyokimyasal parametreler metal toksisitesi için iyi birer biyomarkırdır. Yapılan çalışmada *G. mellonella* larvalarının orta barsak ve yağ dokusunda uygulanan tüm derişimlerde SOD ve CAT aktivitesinde azalma meydana gelirken, orta barsakta GST aktivitesinde artış meydana geldiği gözlenmiştir. GPx aktivitesinde ise, 100 µg/mL derişiminin uygulandığı grupta artış meydana geldiği tespit edilmiştir. Bakır oksit nanopartikül toksisitesinin antioksidan SOD ve CAT seviyelerini azaltarak larvanın orta barsak ve yağ dokusunda reaktif oksijen türlerinin birikmesine neden olmuş olabileceği düşünülmektedir. Assadian vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada bakır oksit nanopartiküllerinin in vitro sitotoksik etkisi sonucunda oksidatif stres indüksiyonu ile hücre içi reaktif oksijen türlerinin seviyelerinde önemli bir artış meydana geldiğini bildirmişlerdir. *Musca domestica* ile yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda gümüş ve kitosan nanopartikülleri uygulanması sonucunda larvaların SOD, CAT, GPx ve GST aktivitesinin maruz kalma süresine bağlı olarak değiştiğini tespit etmişlerdir (Ramadan vd., 2020). *S. litura* ve *A. janata* ile yapılan bir çalışmada, gümüş nanopartikülü uygulaması sonucunda SOD, CAT ve GPx aktivitesinin derişime bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir (Yasur & Pathipati, 2015). Apis mellifera ile yapılan bir çalışmada ise, arıların 10 gün boyunca çinko oksit nanopartiküllerine ve çinko klorüre maruz bırakılmasından sonra GST aktivitesinde artış meydana geldiğini bildirilmiştir (Milivojevic vd., 2015). Böceklerde nanopartiküller dış iskelete ve hücre içi boşluğa girebilir ve daha sonra nanopartikül iyonları sitoplazmaya salınır ve kükürt proteinlerine bağlanır, böylece reaktif oksijen türlerinin seviyelerinin artmasına ve dolayısıyla hücrel fonksiyonların hasarına ve bunun sonucunda da hücre ölümüne neden olabilmektedir (Benelli, 2018; Mir vd., 2020). Elde edilen bulgular sonucunda bakır oksit nanopartiküllerinin neden olduğu oksidatif stres sonucunda dokularda biriken reaktif oksijen türlerinin GPx ve GST enzimleri vasıtasıyla ortadan kaldırılmaya çalışıldığı düşünülmektedir.

Farklı derişimlerdeki bakır oksit nanopartiküllerine maruz bırakılan larvalarda ise her iki dokuda da AChE aktivitesinde azalma meydana gelmiştir. Bakırın sülfür verici gruplara olan yüksek afinitesi, tiyol kalıntılara bağlanarak AChE inhibisyonuna neden olabilmektedir (Gomes vd., 2011). AChE enzim aktivitesindeki değişiklikler, bakır dahil çeşitli metal ve organofosforlu pestisitlere maruz kalındığının bir göstergesidir (Bebiaanno vd., 2004; Lehtonen & Leiniö 2003; Regoli & Principato 1995). Böceklerde AChE aktivitesi genellikle beyin, göğüs ve karın bölgeleri ile

abdominal ganglionlarda düzenlenmektedir (Thany vd., 2010). AChE aktivitesi, bir organizmanın sinir sisteminin kolinerjik fonksiyonlarını belirlemek için kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca, farklı türlerle yapılan çalışmalarda da AChE aktivitesindeki değişikliklerin oksidatif stres, hücre sinyalindeki düzensizlik veya nörotransmisyonadaki bozukluktan kaynaklandığı bildirilmiştir (Gonçalves vd., 2012; Milivojevic vd., 2015).

Böcekler, karasal ekosistemin büyük bir popülasyonunu oluşturan canlı gruplarıdır. Metal nanopartiküllerinin biyoakümülyasyonu ve biyomagnifikasyonu bu canlı gruplarında büyük önem taşımaktadır. Nanomalzemelerin biyoakümülyasyonu, organizmada nanopartiküllerin birikmesiyle başlamakta ve daha sonra besin zinciri yoluyla diğer organizmalara aktarılmaktadır. Bu nedenle böcekler bu zincirin önemli bir parçasını oluşturmakta ve böceklerin model organizma olarak kullanıldığı çalışmalar önem taşımaktadır. Sonuç olarak yapılan çalışmada da elde edilen veriler, farklı derişimlerde bakır nanopartiküllerine maruz kalan *G. mellonella* larvalarının antioksidan enzimlerinde önemli değişiklikler meydana getirdiği belirlenmiştir. Bakır oksit nanopartikülünün etkisi sonucunda reaktif oksijen türlerinin dokularda artması nedeniyle larvaların orta barsak ve yağ dokularında oksidatif stres meydana geldiği düşünülmektedir. *G. mellonella'* da bakır nanopartiküllerinin etkisinde incelenen antioksidan savunma sistemi parametrelerindeki değişikliklerin metal kirliliğinin bir göstergesi olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Aschberger, K., Micheletti, C., Sokull-Klüttgen, B. & Christensen, F.M. (2011).** Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health-Lessons learned from four case studies. *Environment International*, **37**, 1143-1156. DOI: [10.1016/j.envint.2011.02.005](https://doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.005)
- Assadian, E., Zarei, M.H., Gilani, A.G., Farshin, M., Degampanah, H. & Pourahmad, J. (2018).** Toxicity of copper oxide (cuo) nanoparticles on human blood lymphocytes. *Biological Trace Element Research* **184**(2), 350-357.
- Bebiaanno, M.J., Géret, F., Hoarau, P., Serafim, M.A., Coelho, M.R., Gnassabarelli, M. & Roméo, M. (2004).** Biomarkers in *Ruditapes decussatus*: a potential bioindicator species. *Biomarkers*, **9**(4-5), 305-330. DOI: [10.1080/13547500400017820](https://doi.org/10.1080/13547500400017820)
- Benelli, G. (2018).** Mode of action of nanoparticles against insects. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**, 12329-12341. DOI: [10.1007/s11356-018-1850-4](https://doi.org/10.1007/s11356-018-1850-4)
- Bi, J.L. & Felton, G.W. (1995).** Foliar oxygen stress and insect herbivory: primary compounds, secondary

- metabolites and reactive oxygen species as components of induced resistance. *Journal of Chemical Ecology*, **21**, 1511-1530. DOI: [10.1007/BF02035149](https://doi.org/10.1007/BF02035149)
- Boyles, M.S., Ranninger, C., Reischl, R., Rurik, M., Tessadri, R., Kohlbacher, O., Duschl, A. & Huber, C.G. (2016).** Copper oxide nanoparticle toxicity profiling using untargeted metabolomics. *Particle and Fibre Toxicology*, **13**, 49. DOI: [10.1186/s12989-016-0160-6](https://doi.org/10.1186/s12989-016-0160-6)
- Bradford, M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254. DOI: [10.1006/abio.1976.9999](https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999)
- Bronskill, J. (1961).** A cage to simplify the rearing of the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Pyralidae). *Journal of the Lepidopterists Society*, **2**, 102-104.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88-95. DOI: [10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Gomes, T. (2012).** Effects of nanoparticles exposure in the mussel *Mytilus Galloprovincialis*. Thesis, *Faculdade De Ciências E Tecnologia, Universidade do Algarve, Portugal*.
- Gonçalves, J.F., Nicoloso, F.T., da Costa, P., Farias, J.G., Carvalho, F.B., da Rosa, M.M., Gutierrez, J.M., Abdalla, F.H., Pereira, J.S., Dias, G.R., Barbosa, N.B., Dressler, V.L., Rubin, M.A., Morsch, V.M. & Schetinger, M.R. (2012).** Behavior and brain enzymatic changes after long-term intoxication with cadmium salt or contaminated potatoes. *Food and Chemical Toxicology*, **50**, 3709-3718. DOI: [10.1016/j.fct.2012.07.016](https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.07.016)
- Gonzalez-Rey, M., Mattos, J.J., Piazza, C.E., Bainy, A.C.D. & Bebianno, M.J. (2014).** Effects of active pharmaceutical ingredients mixtures in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquatic Toxicology*, **153**, 12-26. DOI: [10.1016/j.aquatox.2014.02.006](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.02.006)
- Greenwald, R.A. (1985).** Handbook of methods for oxygen radical research. CRC Press: Boca Raton, Florida, United States of America, s. 447. DOI: [10.1201/9781351072922](https://doi.org/10.1201/9781351072922)
- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. (1974).** Glutathione S-transferases: The first enzymatic step mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**, 7130-7139. DOI: [10.1042/bj2150617](https://doi.org/10.1042/bj2150617)
- Hannig, M., Kriener, L., Hoth-Hannig, W., Becker-Willinger, C. & Schmidt, H. (2007).** Influence of nanocomposite surface coating on biofilm formation in situ. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, **7**, 4642-4648. DOI: [10.1166/jnn.2007.005](https://doi.org/10.1166/jnn.2007.005)
- Ivask, A., Juganson, K., Bondarenko, O., Mortimer, M., Aruoja, V., Kasemets, K., Blinova, I., Heinlaan, M., Slaveykova, V. & Kahru, A. (2014).** Mechanisms of toxic action of Ag, ZnO and CuO nanoparticles to selected ecotoxicological test organisms and mammalian cells in vitro: A comparative review. *Nanotoxicology*, **8**, 57-71. DOI: [10.3109/17435390.2013.855831](https://doi.org/10.3109/17435390.2013.855831)
- Lawrence, R.A. & Burk, R.F. (1976).** Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **71**(4), 952-958. DOI: [10.1016/0006-291x\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291x(76)90747-6)
- Lehtonen, K.K. & Leiniö, S. (2003).** Effects of exposure to copper and malathion on metallothionein levels and acetylcholinesterase activity of the mussel *Mytilus edulis* and the clam *Macoma balthica* from the Northern Baltic Sea. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **71**, 489-496. DOI: [10.1007/s00128-003-8853-6](https://doi.org/10.1007/s00128-003-8853-6)
- McCord, J.M. & Fridovich, I. (1969).** Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocytin). *Journal of Biological Chemistry*, **244**(22), 6049-6055.
- Milivojevic, T., Glavan, G., Bozic, J., Sepcic, K. & Mesaric, T. (2015).** Neurotoxic potential of ingested ZnO nanomaterials on bees. *Chemosphere*, **120**, 547-554. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.07.054](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.07.054)
- Mir, A.H., Qamar, A., Qadir, I., Naqvi, A.H. & Begum, B. (2020).** Accumulation and trafficking of zinc oxide nanoparticles in an invertebrate model, *Bombyx mori*, with insights on their effects on immuno-competent cells. *Scientific Reports*, **10**, 1617. DOI: [10.1038/s41598-020-58526-1](https://doi.org/10.1038/s41598-020-58526-1)
- Nations, S., Long, M., Wages, M., Maul, J.D., Theodorakis, C.W. & Cobb, G.P. (2015).** Subchronic and chronic developmental effects of copper oxide (CuO) nanoparticles on *Xenopus laevis*. *Chemosphere*, **135**, 166-174. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2015.03.078](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.078)
- Libralato, G., Galdiero, E., Falanga, A., Carotenuto, R., de Alteriis, E. & Guida, M. (2017).** Toxicity effects of functionalized quantum dots, gold and polystyrene nanoparticles on target aquatic biological models: a review. *Molecules*, **22**, 1439. DOI: [10.3390/molecules22091439](https://doi.org/10.3390/molecules22091439)
- Niska, K., Santos-Martinez, M.J., Radomski, M.W. & Inkielewicz-Stepniak, I. (2015).** CuO nanoparticles induce apoptosis by impairing the antioxidant defense and detoxification systems in the mouse hippocampal HT22 cell line: Protective effect of crocetin. *Toxicology in Vitro*, **29**, 663-671. DOI: [10.1016/j.tiv.2015.02.004](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2015.02.004)
- Ramadan, R.H., Abdel-Meguid, A.D. & Emara, M.M. (2020).** Effects of synthesized silver and chitosan nanoparticles using *Nerium oleander* and *Aloe vera* on antioxidant enzymes in *Musca domestica*. *International Journal on Environmental Sciences*, **21**, 9-14. DOI: [10.21608/CAT.2020.20921.1036](https://doi.org/10.21608/CAT.2020.20921.1036)

- Regoli, F. & Principato, G. (1995).** Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*, **31**, 143-164. DOI: [10.1016/0166-445X\(94\)00064-W](https://doi.org/10.1016/0166-445X(94)00064-W)
- Schrand, A.M., Rahman, M.F., Hussain, S.M., Schlager, J.J., Smith, D.A. & Syed, A.F. (2010).** Metal-based nanoparticles and their toxicity assessment. *Wiley interdisciplinary reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology*, **2**, 544-568. DOI: [10.1002/wnan.103](https://doi.org/10.1002/wnan.103)
- Sezer Tuncsoy, B., Tuncsoy, M., Gomes, T., Sousa, V., Teixeira, M.R., Bebianno, M.J. & Ozalp, P. (2019).** Effects of copper oxide nanoparticles on tissue accumulation and antioxidant enzymes of *Galleria mellonella* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **102**, 41-346. DOI: [10.1007/s00128-018-2529-8](https://doi.org/10.1007/s00128-018-2529-8)
- Sezer Tuncsoy, B. (2020).** Bakır oksit nanopartiküllerinin *Galleria mellonella* larvaları üzerine immün ve metabolik etkileri. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, **10** (1), 53-60. DOI: [10.7212/zkufbd.v10i1.1526](https://doi.org/10.7212/zkufbd.v10i1.1526)
- Thany, S.H., Tricoire-Leignel, H. & Lapied, B. (2010).** Identification of cholinergic synaptic transmission in the insect nervous system. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **683**, 1-10. DOI: [10.1007/978-1-4419-6445-8_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6445-8_1)
- Yasur, J. & Pathipati, U.R. (2015).** Lepidopteran insect susceptibility to silver nanoparticles and measurement of changes in their growth, development and physiology. *Chemosphere*, **124**, 92-102. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.11.029](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.029)
- Zhou, M., Tian, M. & Li, C. (2016).** Copper-based nanomaterials for cancer imaging and therapy. *Bioconjugate Chemistry*, **27**, 1188-1199. DOI: [10.1021/acs.bioconjchem.6b00156](https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00156)