



Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences

(Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi)

E-ISSN 2548-0006

JAES

AÇEH

Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi

*Journal of Anatolian
Environmental and Animal Sciences*

Cilt/Volume 5 • Sayı/Number 2 • 2020



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. Iliia 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. Jinho 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 Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Deniz Bil. ve Tek. Fakültesi
Prof. Dr. Muhammet 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 EMMANOUL, 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, Çanakkale 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 AYATAN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Ahmet Raif ERYAŞAR, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi
Doç. Dr. Gülbin FIRIDİN GAZI ÜNİVERSİTESİ, Fen bilimleri enstitüsü, Çevre ABD.
Dr. Arzu AYDIN UNCUMUSAOĞLU, Giresun Üniversitesi, Çevre Mühendisliği
Dr. Şükri 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. Münever 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: verepoglu@gmail.com, anatolianacademiccience@hotmail.com

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

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	S/P. No
Evaluation of Pretreatment Serum Albumin-to-Globulin Ratio in Dogs with Naturally Occurring Parvovirus Infection.	Research	115-117
Doğal Parvovirus ile Enfekte Köpeklerde Tedavi Öncesi Serum Albuminin Globuline Oranının Değerlendirilmesi.	Araştırma	118-124
Didem PEKMEZCİ & Kübra ÇAKIR Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of <i>Salvia verticillata</i> L., <i>Salvia tomentosa</i> Mill., and <i>Phlomis lychnitis</i> L. Salvia verticillata L., <i>Salvia tomentosa</i> Mill. ve <i>Phlomis lychnitis</i> L.'nin Toplam Fenolik ve Flavonoid İçerikleri ve Antioksidan Aktivitesi.	Research	125-130
Emine KILIÇKAYA SELVİ Adsorption of Copper (II) from Aqueous Solution by Using Carbonized Peanut Hull: Determination of the Equilibrium, Kinetic and Thermodynamic Parameters. Karbonize Fıstık Kabuğu Kullanılarak Sulu Çözeltilerden Bakır (II)'nin Adsorpsiyonu: Denge, Kinetik ve Termodinamik Parametrelerin Belirlenmesi.	Research	131-137
Gülşad USLU ŞENEL Sinop İlinde Faaliyet Gösteren Su Ürünleri İşletmelerinin Sürdürülebilir Kalkınma Açısından Değerlendirilmesi.	Araştırma	138-145
Evaluation of Fishery Products Enterprises in Sinop Province by Sustainable Development Zafer KARSILI & Recai KOCATEPE	Research	146-153
Temporal and Spatial Analysis of Flooding and Landslide Disasters in Turkey for Period 1960-2018. Türkiye'deki Sel ve Heyelan Afetlerinin 1960-2018 Yılları Arasındaki Zamansal ve Mekansal Analizi.	Research	154-160
Güzide Miray PERİHANOĞLU & Himmet KARAMAN The Toxic Effects of Commonly Used Antibiotics in Turkey on Aquatic Organisms. Türkiye'de Yaygın Olarak Kullanılan Antibiyotiklerin Sucul Organizmalar Üzerindeki Toksik Etkileri.	Research	161-172
V. Zülal SÖNMEZ & Nüket SİVRİ Petrol Kirliliği Kaynaklı Uluslararası Tazminat Sistemi ve Mesuliyetin Paylaşılması. Petrol Pollution Sourced International Compensation System and Distribution of Liability	Araştırma	173-177
Binyamin KAMAL & Erhan ÇILOĞLU Influence of Lead and Applied Singly and in Mixture with Chitosan on Tissue Accumulation of <i>Clarias gariepinus</i> . Kurşun ve Kurşun-Kitosan Karışımının <i>Clarias gariepinus</i> 'da doku birikimi üzerine etkileri.	Research	178-184
Mustafa TUNÇSOY & Servet DURAN Süt Sığırlarının Beslenmesinde Metabolize Edilebilir Protein Sistemleri. Metabolizable Protein Systems in Dairy Cattle Nutrition.	Research	185-190
Mirza Yiğithan ÖĞÜT* Nurcan ÇETİNKAYA Mollusca Fauna of the Çoruh River and Its Tributaries. Çoruh Nehri ve Kollarının Mollusca Faunası.	Research	191-198
Ahmet Mutlu GÖZLER & Hazal BAYTAŞOĞLU Possible Efficacy of Some Plant Crude Extracts Against <i>Orosanga japonica</i> (Hemiptera: Ricaniidae) Nymphs. Bazı Bitki Ham Özülerinin <i>Orosanga japonica</i> (Hemiptera: Ricaniidae) Nimflerine Karşı Olası Etkinlikleri.	Research	199 -204
İbrahim GUNEY, Murat ÖZTURK, Asu USTA & M. Mustafa AKİNER Some Morphometric Relationships of Wels Catfish (<i>Silurus glanis</i> L., 1758) Inhabiting Siddıklı Dam Lake (Kırşehir, Turkey). Siddıklı Baraj Gölü (Kırşehir, Türkiye)'nde Yaşayan Yayın Balığı (<i>Silurus glanis</i> L., 1758)'nin Bazı Morfometrik İlişkileri.	Research	205-211
Ramazan YAZICI & Okan YAZICIOĞLU Afyonkarahisar İlinde Eğitim Gören Lise Öğrencilerinin Balık Tüketim Davranışlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. A Study on Determination Fish Consumption Behaviour of High School Students Studying in Afyonkarahisar Province	Research	212-217
Hasan YİĞİT, Taçnur BAYGAR, Yunus ALPARSLAN & Emrah Gökay ÖZGÜR Determination of Reference Values of Some Hematological and Immunological Parameters in Healthy Russian Sturgeon (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>). Sağlıklı Rus Mersin Balıklarında (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>) Bazı Hematolojik ve İmmünoojik Parametrelerin Referans Değerlerinin Belirlenmesi.	Research	218-223
Selçuk DUMAN Relationship Of Urban Development With The Heat Islands, Trabzon Case Study. Kentsel Gelişimin Isı Adalarına Etkisinin Araştırılması, Trabzon İli Örneği	Araştırma	224-230
Burak KAZANCI & Fulya Başak SARIYILMAZ <i>Streptomyces</i> Suşlarında Farklı Genetik Manipulasyonların Ksilinaz Enzim Üretimi Üzerine Etkisi. Effect of Different Genetic Manipulations on the Production of Xylanase Enzyme in <i>Streptomyces</i> Strains	Research	231-235
Fatma Esen SARIGÜLLÜ ÖNALAN <i>In Vitro</i> Anti- <i>Helicobacter pylori</i> and Antimycobacterial Activity Evaluation of Selected Plants From Turkey Türkiye'de Yetiştirilen Bazı Bitkilerin <i>In Vitro</i> Anti- <i>Helikobakter pylori</i> ve Antimikobakteriyel Aktivitesi	Research	236-240
Ayşe Esra KARADAĞ, Ayşeşül ÇAŞKURLU & Fatma TOSUN Kürtün Baraj Gölü'nde Yaşayan Gürcü şemaya (<i>Alburnus derjugini</i>) ve Yetiştiriciliği Yapılan Alabalık Türlerinde Parazitik İnceleme. Parasitic Examination of Cultured Trout Species and Georgian şemaya (<i>Alburnus derjugini</i>) Live in Kürtün Dam Lake.	Research	241-244
Şevki KAYIŞ, Ahmet BİNGÖL, Akif ER & Zeynep Zehra İPEK Molecular Characterization of <i>Anisakis typica</i> (Nematoda: Anisakidae) from the Mediterranean Sea Coasts of Turkey: First Mitochondrial <i>rns</i> Sequence Data. Türkiye'nin Akdeniz Kıyılarından <i>Anisakis typica</i> 'nın (Nematoda: Anisakidae) Moleküler Karakterizasyonu: İlk Mitokondriyal <i>rns</i> Dizi Verileri.	Research	245-252
Gökmen Zafer PEKMEZCİ & Ertan Emek ONUK Artvin Ladin Ormanlarında <i>Ips typographus</i> L. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)'un Epidemiyolojisine Toprak Yapısının Etkileri. Some Soil properties in healthy and unhealthy stands dominated with Oriental Spruce in Artvin under threat of <i>Ips typographus</i> L..	Research	253-259
Mimar Sinan ÖZKAYA Weight - Length Relationships (WLRs) of Anchovy, <i>Engraulis encrasicolus</i> with the Evaluation of Overfishing Effects on the Slope (b) in the Black Sea (Turkey). Karadeniz'de (Türkiye) Hamsi Balığının, <i>Engraulis encrasicolus</i> (Linnaeus, 1758) (Clupeiformes: Engraulidae) Ağırlık-Boy (WLRs) İlişkisi ile Av Baskısının Eğim Parametresi (b) Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi.	Research	260-263
Sabri BILGIN & Ebru SOLAK Human Health Risk Assessment of Heavy Metals Via Dietary Intake of Rainbow Trout from Samsun Fish Markets Samsun Balık Pazarlarından Gökkuşluğu Alabalığı Tüketimi ile Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Risk Değerlendirmesi.	Research	264-269
Öztekim YARDIM & Levent BAT Deniz Levreği ve Çipura Yemlerinde Totoks Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi Üzerine Bir Araştırma. A Study on the Time-Dependent Change of Totox Values in Feeds of Marine Fish	Research	270
Önder YILDIRIM & İsmail Berat ÇANTA Gökkuşluğu Alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Yavrularında Görülen Gaz Kabarcığı Hastalığı ve Tedavisi Üzerine Bir Araştırma. A Study on Gas Bubble Disease and Treatment Observed in Rainbow Trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) Fry	Düzeltilme Erratum	
Fikri BALTA & Zeynep DENGİZ BALTA		



Evaluation of Pretreatment Serum Albumin-to-Globulin Ratio in Dogs with Naturally Occurring Parvovirus Infection [*]

Didem PEKMEZCİ^{1*} Kübra ÇAKIR²

¹Department of Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ondokuz Mayıs, 55200 Kurupelit, Samsun, Turkey.



²Masal Veterinary Clinic, Yahyakaptan, Kocaeli, Turkey.

Geliş/Received: 09.02.2020


Kabul/Accepted: 03.04.2020

How to cite: Pekmezci, D. & Çakır, K. (2020). Evaluation of Pretreatment Serum Albumin-to-Globulin Ratio in Dogs with Naturally Occurring Parvovirus Infection. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 118-124.

Atıf yapmak için: Pekmezci, D. & Çakır, K. (2020). Doğal Parvovirus ile Enfekte Köpeklerde Tedavi Öncesi Serum Albuminin Globuline Oranının Değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 118-124.

*  <https://orcid.org/0000-0003-2072-8165>
 <https://orcid.org/0000-0001-7488-1400>

***Corresponding author's:**

Didem PEKMEZCİ
Department of Internal Medicine, Faculty
of Veterinary Medicine, University of
Ondokuz Mayıs, 55200 Kurupelit, Samsun,
Turkey
 dkazanci@omu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (505) 477 95 24
Telephone : +90 (362) 312 19 19
Fax : +90 (362) 457 69 22

Abstract: A pretreatment albumin (ALB)-to-globulin (GLB) ratio (AGR) with a predictive significance has been used as an indispensable marker among cancer types for recurrence and prognosis in human patients. This study aims to determine whether the pretreatment AGR and total calcium (tCa), magnesium (Mg), ionised phosphorus (iP), total protein (TP), and haematology parameters as bedside markers differs in dogs with naturally occurring parvovirus infection (PVI). Fourteen client-owned dogs aged 2-8 months that were naturally infected with parvovirus (PV) were enrolled as the study group. Seven client-owned, healthy dogs of the same age formed the control group. Pretreatment mean complete blood counts, serum tCa, Mg, iP, TP, ALB, globulin GLB and AGR values, were compared between groups. The pretreatment mean WBC, NEU, LYM, EOS, GLB, and TP levels were found to be significantly lower ($P < 0.05$) in the study group, when compared to the control group. On the other hand, pretreatment AGR with iP was found to be statistically higher ($P < 0.05$) in the study group, when compared to the control group. There was a significant positive correlation between mean serum GLB and WBC levels in the current study. A significant positive correlation between mean serum TP and WBC levels was also found. This preliminary study demonstrates that pretreatment serum GLB levels and the AGR as easy, inexpensive, objective, and non-invasive biomarkers could be the new prognostic marker candidates in dogs with naturally occurring PVI.


Keywords: Albumin-to-globulin ratio, canine, globulin, parvovirus, prognostic marker candidate.

Doğal Parvovirus ile Enfekte Köpeklerde Tedavi Öncesi Serum Albuminin Globuline Oranının Değerlendirilmesi

Öz: Tedavi öncesi albüminin (ALB) globüline (GLB) oranı (AGO) çeşitli kanser vakalarının nüks ve prognozunun değerlendirilmesinde prediktif öneme sahip ve vazgeçilmez bir belirteçtir. Mevcut çalışmanın amacı ise tedavi öncesi başucu belirteçlerinden AGO ile total kalsiyum (tCa), magnezyum (Mg), iyonize fosfor (iP), total protein (TP) ve hematolojik belirteçlerin doğal olarak parvovirus enfeksiyonu (PVE) şekillenen köpeklerde değişip değişmediğinin belirlenmesidir. On dört adet yaşları 2 ila 8 aylık arasında değişen, doğal parvovirus (PV) ile enfekte köpek çalışma grubunu oluşturmuştur. Yedi adet, aynı yaş aralığında sağlıklı ve sahipli köpek ise kontrol grubunu oluşturmuştur. Tedavi öncesi ortalama total kan sayımı, serum tCa, Mg, iP, TP, ALB, GLB ve AGO değerleri gruplar arasında karşılaştırılmıştır. Tedavi öncesi kontrol grubu WBC, NEU, LYM, EOS, GLB ve TP seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel ($P < 0.05$) olarak düşük olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan çalışma grubunun tedavi öncesi AGO ile iP değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak ($P < 0.05$) yüksek bulunmuştur. Serum GLB ile WBC değerleri arasında ise mevcut çalışmada pozitif bir korelasyon bulunmuştur. TP ile WBC değerleri arasında ise güçlü bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu öncü çalışma ile tedavi öncesi GLB ile AGO değerlerinin, maliyetsiz, objektif ve non-invazif biyobelirteçler olarak doğal PVE şekillenen köpeklerde yeni prognostik belirteç adayları olabileceği ortaya konulmuştur.

Anahtar kelimeler: Albuminin globuline oranı, globulin, kanin, parvovirus, prognostik belirteç adayı.

***Sorumlu yazar:**

Didem PEKMEZCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı,
55200 Kurupelit, Samsun, Türkiye.
 dkazanci@omu.edu.tr
Cep telefonu : +90 (505) 477 95 24
Telefon : +90 (362) 312 19 19
Faks : +90 (362) 457 69 22

INTRODUCTION

Parvovirus (PV), which first emerged in the mid-1970s, is an important infectious disease with high morbidity and mortality, especially in dogs younger than 6 months, and has remained as a major enteric pathogen worldwide (Appel et al., 1978; McCaw et al., 2006). The characteristic signs of parvovirus infection (PVI) in dogs include haemorrhagic diarrhoea, vomiting, loss of appetite, lethargy, fever, severe dehydration, sudden collapse, and death (Goddard & Leisewitz, 2010; Yilmaz & Senturk, 2007). There are factors, including the host, pathogen, secondary infections, underlying stressors and environment that affect the severity and outcome of PVI in dogs. However, it has been reported that the chances of death are higher in PV-infected dogs who have evidence of systemic inflammation at the time of admission, compared with those who do not (Kalli et al., 2010). Numerous clinicopathologic biomarkers, including haematology (Goddard et al., 2008), coagulation (Otto et al., 2000) and serum biochemistry (Kalli et al., 2010; McClure et al., 2013; Yilmaz & Senturk, 2007) have been introduced as prognosticators in dogs naturally infected with PV, especially for predicting survival and duration of hospitalisation. The availability of several predictors may help the clinician identify patients at a high risk of death and assist in decision making when discussing treatment options or euthanasia with clients (Schoeman et al., 2013).

The determination of the serum total protein (TP) level is a main assessment tool in general biochemistry and is routine in daily clinical veterinary practice (Tothova et al., 2016). The assessment of serum protein differences over the duration of a disease is fundamental for their use as valid biomarkers (Okutucu et al., 2007). Serum proteins can be separated into four main fractions—albumin (ALB), α -, β -, and γ -globulins—based on their electrophoresis (Bossuyt, 2006); these fractions display significant differences in domestic animals. ALB, α_1 -, α_2 -, β_1 -, β_2 -, and γ -globulins are the determined fractions in healthy dogs (Abate et al., 2000). ALB and globulin (GLB) represent the two major reflector constituents of serum proteins that have roles in systemic inflammation in animals (Kaneko, 1997). ALB is the most important—negative acute-phase protein found in serum and constitutes 35-50% of the TP (Kaneko, 1997). Increased serum GLB levels may show a chronic inflammatory response and cumulative exposure to different inflammatory cytokines (Sugimoto et al., 2012). Alterations in serum GLB levels are associated with changes in its fractions, and alterations in the concentration of ALB and GLD lead to changes in the albumin-to-globulin ratio (AGR), which provides a systematic approach to the interpretation of protein dyscrasias (Eckersall et al., 2008).

Therefore, determination of serum TP panels with individual fractions provides an excellent basis for probable diagnosis and for additional examination of the patient (Eckersall et al., 2008). Recently, pretreatment AGR with a prognostic significance has been used as an indispensable marker among various cancer types for recurrence and prognosis in human patients (Chen et al., 2017; He et al., 2017; Lin et al., 2017). A higher AGR reflects the underproduction of globulins and provides significant information about the alterations in the electrophoretic pattern with classifying disruption of protein fractions (Alberghina et al., 2011). AGR measurement is inexpensive, easy to test for, and a standardised evaluation criterion in numerous diseases worldwide (Zhou et al., 2016). None of the common bedside blood serum biochemistry panels have yet been able to predict survival, outcome, or DOH in dogs naturally infected with PV (Mann et al., 1998).

However, the acute response of pretreatment GLB levels and the AGR in dogs naturally infected with PV has not yet been investigated. Thus, the determination of GLB levels and the AGR may provide important prognostic value for dogs naturally infected with PV. Therefore, our primary interest in the current study is to determine whether pretreatment serum GLB levels and the AGR, as bedside markers, differ in dogs naturally infected with PV from healthy dogs.

MATERIAL AND METHOD

Research Material: Twenty-one client-owned dogs, 2-8 months of age, of any breed and either sex, brought to the Veterinary Teaching Hospital from April 2017-May 2018 were enrolled in the current study. Fourteen dogs naturally infected with PV—diagnosed based on the positive result of a rapid detection kit (ASAN Easy Test®) for PV antigens in faeces—were placed in the study group. None of the 7 healthy dogs had any clinical sign of PVI, or other diseases, prior to the sampling. The healthy dogs had been brought into the clinic by clients for general examinations and routine blood checks. The healthy dogs formed the control group. Data from the complete blood count of the dogs including signalment, result of rapid detection kit for PVI obtained from the medical records. This study was approved by the Local Ethical Committee for Animal Studies (certificate no. 2016/64). The dogs naturally infected with PV were treated according to a standard protocol reported by Hoskins (1998).

Procedures: Venous blood was taken from the cephalic vein of each dog in the study at the time of admission to the Veterinary Teaching Hospital, with 2 ml

evacuated into a plain additive tube with K3 EDTA (7.5% 0.040 ml) and 5 ml into a vacutainer without anticoagulant, for biochemical analysis. The 5 ml sample was centrifuged at 3000g for 10 minutes at room temperature. Serum samples were separated and stored at -80°C until analysis. Complete blood count analysis was performed by a BC-5000 Vet Auto Haematology Analyzer Mindray®, and results were recorded. Serum tCa, Mg, iP, ALB, and TP values were measured using a BS 120 Chemistry Analyzer Mindray®. GLB was calculated using the equation $\text{GLB} = \text{TP} - \text{ALB}$. The AGR was calculated using the equation $\text{AGR} = \text{ALB} / \text{GLB}$.

Statistical Analysis: The complete blood count (NEU, LYM, MONO, EOS, BAS, NEU%, LY%, MONO%, EOS%, BAS%, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW-CV, RDW-SD, PLT, PCT, MPV, and PDW); serum tCa, Mg, iP, ALB, GLB, and TP; and the AGR were the analysed parameters. The resulting datasets were analysed for normality using the Shapiro-Wilk test. The Student-t test was used for the parameters that showed normality. The Mann-Whitney *U* test was used for the variables that did not show normality. Pearson's correlation coefficients were calculated to determine whether serum TP and GLB concentrations and the AGR were linearly associated with WBC and LYM values. All comparisons were considered statistically significant when $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The mean WBC of the study group ($7.569 \times 10^9 / \text{L}$) was found to be statistically ($P = 0.000$) lower than the mean WBC of the control group ($15.636 \times 10^9 / \text{L}$). There were significant differences ($P = 0.000$) found in the mean NEU and LYM ($P = 0.013$) levels of the study group versus the control group (Figure 1). On the other hand, mean MON, EOS, BAS, MONO%, MCV, and MCH levels not showed normality. The Mann-Whitney *U* test performed to the mean MON, EOS, BAS, MONO%, MCV, and MCH levels. Only the mean EOS level in the study group was found to be statistically significant ($P = 0.006$), when compared to the control group (Figure 1).

Of the serum biochemistry variables, only the serum iP level showed normality. Same as the Mann-Whitney *U* test performed for analysing mean serum iP levels. The mean serum iP level in the study group was also found to be statistically higher ($P = 0.044$), when compared to the control group (Figure 2).

Mean serum GLB ($P = 0.001$) and TP ($P = 0.003$) levels were found to be statistically lower than control levels (Figure 3). The mean serum AGR in the study group (0.64) was found to be statistically higher ($P = 0.012$) than the control mean serum AGR (0.50) (Figure 3).

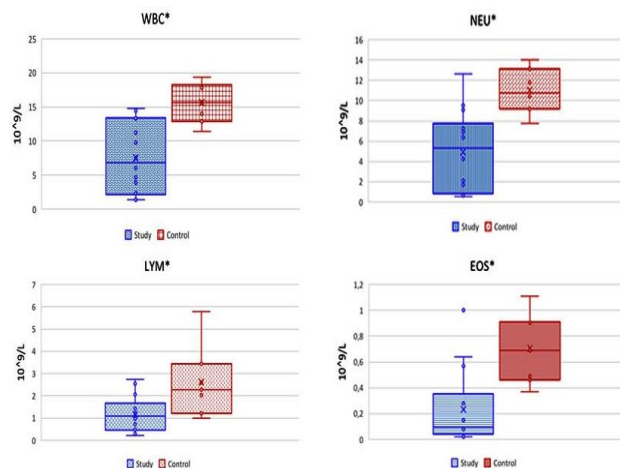


Figure 1. Box-and-whiskers plot of pretreatment WBC, NEU, LYM, and EOS values in dogs with infected PV (blue boxes) or healthy controls (red boxes). The box incorporates the middle 50% of observation; the bottom of the box is the first quartile (25th percentile) and the top of the box is the third quartile (75th percentile). The horizontal line in the middle of the box is the median (50th percentile). The cross within each box represents the mean value. The whiskers extend to the smallest and largest observations that are 1.5 times removed from the interquartile range are plotted separately as dots.

*Significant difference between dogs with study and control group, $P < 0.05$.

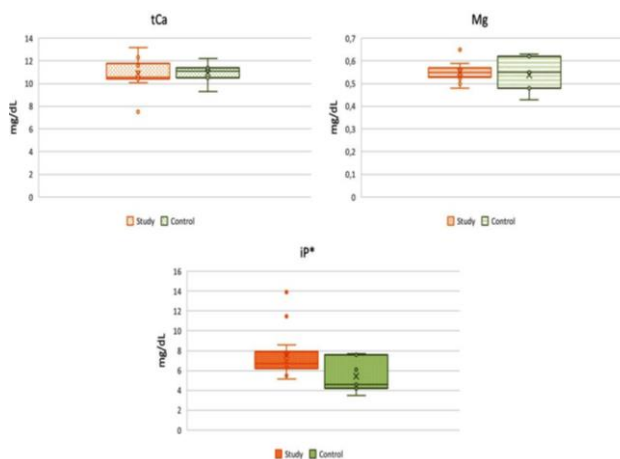


Figure 2. Box-and-whiskers plot of pretreatment serum tCa, Mg, and iP levels in dogs with infected PV (orange boxes) or healthy controls (green boxes). The box incorporates the middle 50% of observation; the bottom of the box is the first quartile (25th percentile) and the top of the box is the third quartile (75th percentile). The horizontal line in the middle of the box is the median (50th percentile). The cross within each box represents the mean value. The whiskers extend to the smallest and largest observations that are 1.5 times removed from the interquartile range are plotted separately as dots.

*Significant difference between dogs with study and control group, $P < 0.05$.

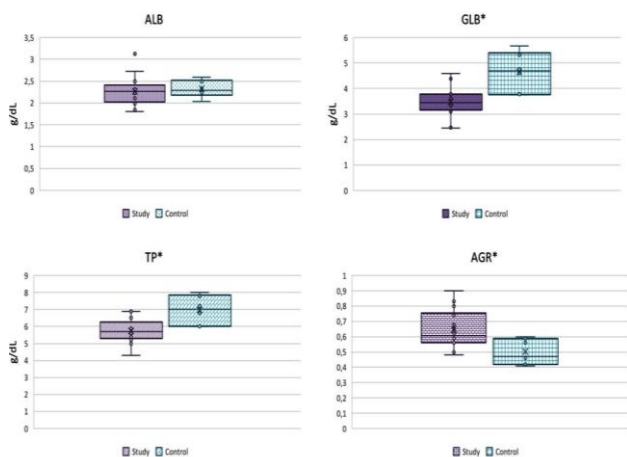


Figure 3. Box-and-whiskers plot of pretreatment serum ALB, GLB, TP and AGR values in dogs with infected PV (purple boxes) or healthy controls (turquoise boxes). The box incorporates the middle 50% of observation; the bottom of the box is the first quartile (25th percentile) and the top of the box is the third quartile (75th percentile). The horizontal line in the middle of the box is the median (50th percentile). The cross within each box represents the mean value. The whiskers extend to the smallest and largest observations that are 1.5 times removed from the interquartile range are plotted separately as dots.

*Significant difference between dogs with study and control group, P < 0.05.

In addition, a positive significant correlation (P < 0.05) between serum TP and WBC was found (Table 1). A positive significant correlation (P < 0.05) was also found between serum GLB and WBC levels (Table 1).

Table 1. Pearson correlations of mean TP, GLB, AGR, WBC, and LYM values.

	TP	GLB	AGR	WBC	LYM
TP	Pearson Correlation 1	.951**	-.616**	.554**	.303
	Sig. (2-tailed)	.000	.003	.009	.181
	N	21	21	21	21
GLB	Pearson Correlation .951**	1	-.822**	.463*	.213
	Sig. (2-tailed)	.000	.000	.035	.354
	N	21	21	21	21
AGR	Pearson Correlation -.616**	-.822**	1	-.184	-.026
	Sig. (2-tailed)	.003	.000	.424	.910
	N	21	21	21	21
WBC	Pearson Correlation .554**	.463*	-.184	1	.675**
	Sig. (2-tailed)	.009	.035	.424	.001
	N	21	21	21	21
LYM	Pearson Correlation .303	.213	-.026	.675**	1
	Sig. (2-tailed)	.181	.354	.910	.001
	N	21	21	21	21

**Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

*Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

A WBC count below $4.5 \times 10^9 / L$ indicates a poor prognosis and the need for aggressive treatment in dogs with PVI (Castro et al., 2013). A significantly transient lymphopenia is frequently characterised in dogs with PVI results in a decrease in the leucocyte number (Ling et al., 2012). Destruction of the haematopoietic progenitor cells leads to this leucopenia, which is usually proportional to the severity and stage of the disease (Hoskins, 2001). Neutrophils are the most numerous types of leukocytes in dogs' blood and provide the first line of defence against invading microorganisms, tissue trauma, or any inciting inflammatory signal. Severe neutropenia is also seen in dogs with

PVI resulting the destruction of myeloblasts in bone marrow with a massive loss of neutrophils from the intestinal wall (Rørtveit et al., 2011). Lymphopenia is an important finding that reflects suppressed humoral and cell-mediated immune responses in dogs with PVI. Goddard et al. (2008) report that lymphopenia in PVI-infected puppies in their research might have occurred as a direct effect of the virus, leading to atrophy or destruction of lymphoid tissues or the releasing of high amounts of cortisol. In the study reported here, only the mean WBC, NEU, LYM, and EOS values of the study group were seen to be statistically decreased versus the control group of dogs. All mean WBC, NEU, LYM, and EOS parameters for the dogs enrolled in the study were under the reference ranges for puppies aged 28-60 days (Rørtveit et al., 2011). Our results were consistent with those previously reported for the decreasing mean WBC, NEU, LYM, and EOS values expected in dogs naturally infected with PVI (Goddard et al., 2008; Ling et al., 2012).

Changes in serum biochemistry related to infections are believed to be nonspecific (Schoeman et al., 2013). Research determining mean serum tCa, Mg, and iP levels are limited of the studies investigating serum biochemistry changes in dogs with PVI. Jacobs et al. (1980) emphasised that total blood Ca concentrations may be diminished due to hypoalbuminemia in dogs with PVI. Jacobs et al. (1980) also advocated that increased blood urea, creatinine, and inorganic phosphate are all associated with dehydration. Contrary to the findings of Jacobs et al. (1980) our results showed the mean tCa levels of the dogs infected with PV were not decreased. There was no statistical significance found in the mean serum tCa concentrations between the study and control groups in the present study. Even though up to 60% of all critically ill human patients are found to be Mg-deficient (Escuela et al., 2005). Mann et al. (1998) reported that total and ionised Mg concentrations were not significantly different between healthy dogs and dogs with PVI or between dogs surviving and those not surviving PVI. Our results are consistent with those of Mann et al. (1998); the serum Mg levels in the study group were not different from the healthy controls. In accordance with the results of Jacobs et al. (1980), serum iP levels in the current study were found to be statistically higher in the study group than in the control group.

Abnormal serum protein profiles provide significant diagnostic assistance in clinical practice, though a definitive diagnosis can seldom be made with their determinations (Eckersall et al., 2008). Hypoproteinaemia with hypoglycaemia was found to be related to poor survival in dogs with PVI (Castro et al., 2013). Same as our results for mean serum TP in the study group showed a statistically important decrease comparing to the control value. Protein-losing enteropathy, intestinal haemorrhage, SIRS-mediated vascular permeability, and subsequent rehydration therapy are the accepted factors affecting plasma proteins throughout the course of PVI in dogs (Mazzaferro et al., 2002; Van den Broek, 1990). Decreased serum ALB levels indicate poor nutritional status and poor survival for different types of cancers, including lung, nasopharyngeal, breast, and laryngeal cancers in humans (Chen et al., 2017; He et al., 2017; Lin et al., 2017). Low serum ALB concentrations in dogs infected with PV Castro et al. (2013) was found to increase DOH (Kalli et al., 2010). Contrary to the low serum ALB concentrations in dogs with PVI found in previously published research, our results demonstrated that mean serum ALB levels did not differ among the study and control groups (Castro et al., 2013; Kalli et al., 2010). Our mean serum ALB levels in both groups were found to be in the reference ranges for dogs aged 60 days (Rørtveit et al., 2011). Aforementioned globulins in healthy dogs in the serum reflect particular health conditions. Despite the determination of various biochemical parameters, including APPs, in naturally PV infected dogs; information about serum GLB levels, and their fractions, in dogs infected with PV is very limited. Van den Broek

(1990) found a significant decrease in the mean level of γ -globulins, and increased α_2 -globulins, in dogs with confirmed PVI by determining the agarose gel electrophoresis before treatment. An important study that investigated serum protein electrophoresis in dogs with PVI demonstrated that there are relative and absolute hypoalbuminemia, hypo- γ -globulinemia, and hyper- α_2 -globulinemia (Van den Broek, 1990). Recently, Castro et al. (2013) showed that dogs with PVI also had hypoglobulinemia. In accordance with those published results, the mean GLB level in our study group was found to be statistically lower than in the control group.

The α and β GLB fractions include APPs, such as haptoglobin, ceruloplasmin, C3 complement, C4 complement, C-reactive protein (CRP), and fibrinogen (Shibutani et al., 2015). Recently, studies conducted on the determination of APPs, especially CRP, in dogs naturally infected with PV show that the concentration of this APP increases over the course of the disease and may be used as a prognostic indicator (McClure V et al., 2013). However, these researchers did not give information about the mean serum GLB levels in PV-infected dogs with high levels of CRP (McClure V et al., 2013). At first sight, there seems to be a parallel between increasing levels of CRP and low GLB concentrations. Therefore, agarose gel electrophoresis should be performed to indicate which fractions of these globulins are altered.

Van den Broek (1990) found hyper- α_2 -globulinemia in dogs with PVI; this GLB fraction reflects the amount of APPs. Van den Broek (1990) also found that, in addition to hyper- α_2 -globulinemia, there was also hypo- γ -globulinemia in dogs with PVI. While hypo- γ -globulinemia and this pattern are typical for foetal or pre-colostral sera in some animal species, it may also be seen in patients with recurrent infections or in cases of immune deficiency (Weaver et al., 2000). Occurrence of hypo- γ -globulinemia in dogs naturally infected with PV may be associated with the lack of passive immunisation.

Changes in the concentrations of ALB and GLB also lead to shifts in the AGR. Normal AGR in dogs and cats presents as 0.6-1.1 (Krimer, 2011). Rørtveit et al. (2011) also found AGRs of 1.0-1.2 in puppies aged 16-60 days. However, our results—even in the healthy controls—were all lower than those reported by Rørtveit et al. (2011). The main explanation of our different AGRs in healthy dogs may be attributed to analytical methods (Rørtveit et al., 2011). Rørtveit et al. (2011) used different analytical methods for measuring serum ALB and TP in that study. Our ALB and TP results were all obtained using a chemistry analyser, and the GLB levels were calculated using the equation $GLB=TP-ALB$. In addition, various disease conditions may alter the relative amounts of ALB and GLB and lead to changes in their proportions (Kaneko, 1997). Therefore, the significant decrease in mean GLB levels in the dogs infected with PV in the present study—with no alteration in mean ALB levels—led to a significant increase in the AGR, compared to the control values in our study. Meanwhile, a significant positive correlation between serum GLB and WBC levels was also found in the current study. Same as a significant positive correlation between serum TP and WBC levels were also found.

The availability of prognostic tests does not completely release the practitioner from making clinical decisions (Schoeman et al., 2013), and prognostication remains a challenging topic (McClure et al., 2013). The clinician has to face the stressful situation of deciding which the appropriate test to measure is and what cut-off value would constitute enough evidence to support a decision for euthanasia or continued treatment in a dog with PVI (Schoeman et al., 2013). Though the composite clinical score introduced by Mohr et al. (2003) as an indispensable prognosticating tool in dogs with PVI is still valid, the establishment of new, cost-effective laboratory biomarkers

for prognostication of survival, outcome, and DOH would be useful (Prittie, 2004).

CONCLUSIONS

The main limitation of the current study was the absence of information about the electrophoretic patterns of the study materials. Misrepresenting the DOH with survival rates of dogs with PVI is the other limitation. Furthermore, a more detailed look at the predictive and prognostic values of pretreatment serum GLB levels and the AGR using multivariate analysis in the form of logistic regression or Cox proportional hazard analysis needs to be demonstrated with future studies about this highly contagious disease.

In summary, this preliminary study demonstrates that pretreatment serum GLB levels and the AGR are easy, cost-effective, objective, and non-invasive biomarkers that could be the new prognostic marker candidates in dogs naturally infected with PV.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are especially thankful to Murat Bayazit and Merve Parmaksiz from Istar Consultancy, Turkey for performing the statistical analyses of this study.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

- Abate, O., Zanatta, R., Malisano, T. & Dotta, U. (2000). Canine serum protein patterns using high-resolution electrophoresis (HRE). *The Veterinary Journal*, *159*, 150-154.
- Alberghina, D., Giannetto, C., Vazzana, I., Ferrantelli, V. & Piccione, G. (2011). Reference intervals for total protein concentration, serum protein fractions, and albumin/globulin ratios in clinically healthy dairy cows. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, *23*, 111-114.
- Appel, M.J.G., Cooper, B.J., Greisen, H. & Carmicheal, L.E. (1978). Status report: canine viral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *173*, 1516-1518.
- Bossuyt, X. (2006). Advances in serum protein electrophoresis. *Advances in Clinical Chemistry*, *42*, 43-80.
- Castro, T.X., Rita de Cassia, N., Goncalves, L.P., Costa, E.M. & Marcello, G.C. (2013). Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. *Canadian Veterinary Journal*, *54*, 885-888.
- Chen, W.Z., Yu, S.T., Xie, R., Lv, Y.X., Xu, D.B. & Yu, J.C. (2017). Preoperative albumin/globulin ratio

- has predictive value for patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, **8**, 48240-48247.
- Eckersall, P.D. (2008)**. Proteins, proteomics, and the dysproteinemias, In: Kaneko, J.J., Harvey, J.W. & Bruss, M.L. (Ed), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 6th ed.*, 117-155p, Elsevier Academic Press, California, USA.
- Escuela, M.P., Guerra, M., Anon, J.M., Martínez-Vizcaíno, V., Zapatero, M.D., Jalon, A.G. & Celeya, S. (2005)**. Total and ionized serum magnesium in critically ill patients. *Intensive Care Medicine*, **31**, 151-156.
- Goddard, A., Leisewitz, A., Christopher, M., Duncan, N.M. & Becker, P.J. (2008)**. Prognostic usefulness of blood leukocyte changes in canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **22**, 309-316.
- Goddard, A. & Leisewitz, A.L. (2010)**. Canine parvovirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **40**, 1041-1053.
- He, X., Guo, S., Chen, D., Chen, X., Zhang, Y., He, Q., Quin, Z., Liu, Z., Xue, Y., Zhang, M., Liu, R., Zhou, F., Han, H. & Yao, K. (2017)**. Preoperative albumin to globulin ratio (AGR) as prognostic factor in renal cell carcinoma. *Journal of Cancer*, **8**, 258-265.
- Hoskins, J.D. (2001)**. Canine viral enteritis, In: Ettinger, S.J. (Ed), *Pocket Companion to Text Book of Veterinary Internal Medicine. 5th ed.*, 214-218p, WB Saunders Company, Philadelphia, USA.
- Hoskins, J.D. (1998)**. Canine viral enteritis, In: Greene, C.E. (Ed), *Infectious Diseases of the Dog and Cat. 2nd ed.*, 40-45p, WB Saunders Company, Toronto, Ontario, USA.
- Jacobs, R.M., Weiser, M.G., Hall, R.L. & Kowalski, J.J. (1980)**. Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. *Journal of the American Animal Hospital Association*, **16**, 809-814.
- Kalli, I., Leontides, L.S., Mylonakis, M.E., Adamama-Moraitou, K., Rallis, T. & Kouitinas, A.F. (2010)**. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research in Veterinary Science*, **89**, 174-178.
- Kaneko, J.J. (1997)**. Serum proteins and the dysproteinemias, In: Kaneko, J.J. (Ed), *Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 5th ed.*, 117-138p, Academic Press, London, UK.
- Krimer, P.M. (2011)**. Generating and interpreting test results: test validity, quality control, reference values, and basic epidemiology, In: Latimer, K.S. (Ed), *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology. 5th ed.*, 365-382p, Wiley-Blackwell, Chichester.
- Lin, Q., Lin, Z., Chen, J., Lin, J.X., Li, X., Jiang J.R., Ma, X.K., Wu, D.H., Chen, Z.H., Dong, M., Wei, L., Wang, T.T., Ruan, D.Y., Lin, Z.X., Wen, J.Y., Wu, X.Y. & Huang, M.S. (2017)**. Prognostic significance of preoperative albumin-to-globulin ratio in patients with cholangiocarcinoma. *Current Research in Translational Medicine*, **65**, 83-87.
- Ling, M., Norris, J.M., Kelman, M. & Ward, M.P. (2012)**. Risk factors for death from canine parvoviral related disease in Australia. *Veterinary Microbiology*, **158**, 280-290.
- Mann, F., Boon, G., Wagner-Mann, C., Ruben, D.S. & Harrington, D.P. (1998)**. Ionized and total magnesium concentrations in blood from dogs with naturally acquired parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **212**, 1398-1401.
- Mazzaferro, E.M., Rudloff, E. & Kirby, R. (2002)**. The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, **12**, 113-124.
- McCaw, D.L. & Hoskins, J.D. (2006)**. Canine viral enteritis, In: Greene, C.E. (Ed), *Infectious Diseases of the Dog and Cat. 3rd ed.*, 63-73p, Saunders Elsevier, St. Louis.
- McClure, V., Schoor, M., Thompson, P.N., Kjelgaard-Hansen, M. & Goddard, A. (2013)**. Evaluation of the use of serum C-reactive protein concentration to predict outcome in puppies infected with canine parvovirus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **243**, 361-366.
- Mohr, A.J., Leisewitz, A.L., Jacobson, L.S., Steiner, J.M., Ruaux, C.G. & Williams, D.A. (2003)**. Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **17**, 791-798.
- Okutucu, B., Dincer, A., Habib, O. & Zihnioglu, F. (2007)**. Comparison of five methods for determination of total plasma protein concentration. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, **70**, 709-711.
- Otto, C.M., Rieser, T.M., Brooks, M.B. & Russell, M.W. (2000)**. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **217**, 1500-1504.

- Prittie, J. (2004).** Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **14**, 167-176.
- Rørtveit, R., Sævik, B.K., Eggertsdottir, A.V., Skancke, E. & Lingaas, F. (2015).** Age-related changes in hematologic and serum biochemical variables in dogs aged 16–60 days. *Veterinary Clinical Pathology*, **44**, 47-57.
- Schoeman, J.P., Goddard, A. & Leisewitz, A.L. (2013).** Biomarkers in canine parvovirus enteritis. *New Zealand Veterinary Journal*, **61**, 217-222.
- Shibutani, M., Maeda, K., Nagahara, H., Ohtani, H., Iseki, Y., Ikeya, T., Sugano, K. & Hirakawa, K. (2015).** The pretreatment albumin to globulin ratio predicts chemotherapeutic outcomes in patients with unresectable metastatic colorectal cancer. *BMC Cancer*, **15**, 347.
- Sugimoto, K., Komiyama, H., Kojima, Y., Goto, M., Tomiki, Y. & Sakamoto, K. (2012).** Glasgow prognostic score as a prognostic factor in patients undergoing curative surgery for colorectal cancer. *Digestive Surgery*, **29**, 503-509.
- Tothova, C., Nagy, O. & Kovac, G. (2016).** Serum proteins and their diagnostic utility in veterinary medicine: A review. *Veterinárni Medicína*, **61**, 475-496.
- Van den Broek, A.H.M. (1990).** Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. *British Veterinary Journal*, **146**, 255-259.
- Weaver, D.M., Tyler, J.W., Van Metre, D.C., Hostetler, D.E. & Barrington, G.M. (2000).** Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **14**, 569-577.
- Yilmaz, Z. & Senturk, S. (2007).** Characterization of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. *Journal of Small Animal Practice*, **48**, 643-650.
- Zhou, T., He, X., Fang, W., Zhan, J., Hong, S., Qin, T., Ma, Y., Sheng, J., Zhou, N., Zhao, Y., Huang, Y. & Zhang, L. (2016).** Pretreatment albumin/globulin ratio predicts the prognosis for small-cell lung cancer. *Medicine (Baltimore)*, **95**, e3097.



Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Salvia verticillata* L., *Salvia tomentosa* Mill., and *Phlomis lychnitis* L.

Emine KILIÇKAYA SELVİ*

Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, 53100 Rize, Turkey

Geliş/Received: 24.12.2019

Kabul/Accepted: 05.05.2020

How to cite: **How to cite:** Kılıçkaya Selvi, E. (2020). Antioxidant Activity and Total Phenolic and Flavonoid Contents of *Salvia verticillata* L., *Salvia tomentosa* Mill., and *Phlomis lychnitis* L.. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 125-130.
Atf yapmak için: Kılıçkaya Selvi, E. (2020). *Salvia verticillata* L., *Salvia tomentosa* Mill. ve *Phlomis lychnitis* L.'nin Toplam Fenolik ve Flavonoid İçerikleri ve Antioksidan Aktivitesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 125-130.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-0291-5362>

*Corresponding author's:
Emine KILIÇKAYA SELVİ
Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, 53100 Rize, TÜRKİYE
✉: emine.selvi@erdogan.edu.tr
Mobile telephone : +90 (505) 243 39 72

Abstract: The purpose of our study was to investigate the total phenolic, total flavonoid, and antioxidant properties of methanol and ethyl acetate extracts of *Salvia verticillata* L., *S. tomentosa* Mill., and *Phlomis lychnitis* L. The antioxidant potentials of the extracts were determined using (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH free-radical scavenging activity. The total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were evaluated using the spectrophotometric method. The methanol extract of *S. verticillata* was the highest in TPC and TFC. The same extract revealed the most significant antioxidant effect with SC_{50} value of 0.01 ± 0.00 mg/mL. Strong positive correlations were also found between DPPH and TFC ($r = 0.904$; $p < 0.01$), and TPC ($r = 0.963$; $p < 0.01$). This relationship indicated that flavonoids, together with other phenolic compounds, contribute greatly to this bioactivity. Our results further suggest that the methanol extract of *S. verticillata* L. is a high-quality antioxidant for use in the medical and food industries.

Keywords: DPPH, total flavonoid, total phenolic, *Salvia tomentosa* Mill., *Salvia verticillata* L., *Phlomis lychnitis* L..

Salvia verticillata L., *Salvia tomentosa* Mill. ve *Phlomis lychnitis* L.'nin Toplam Fenolik ve Flavonoid İçerikleri ve Antioksidan Aktivitesi

Öz: Çalışmamızın amacı, *Salvia verticillata* L., *S. tomentosa* Mill. ve *Phlomis lychnitis* L.'nin metanol ve etil asetat ekstraktlarının toplam fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan özelliklerini araştırmaktır. Ekstraktların antioksidan potansiyelleri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal temizleme etkinliği kullanılarak belirlendi. Toplam fenolik içerik (TPC) ve toplam flavonoid içerik (TFC) spektrofotometrik yöntem kullanılarak değerlendirildi. *S. verticillata*'nin metanol ekstraktı, TPC ve TFC'de en yüksektir. Aynı ekstrakt, 0.01 ± 0.00 mg / mL SC_{50} değeri ile en iyi antioksidan aktivite ortaya koydu. Ayrıca DPPH ve TFC ($r = 0.904$; $p < 0.01$) ve TPC ($r = 0.963$; $p < 0.01$) arasında da güçlü pozitif korelasyon bulundu. Bu ilişki, flavonoidlerin diğer fenolik bileşiklerle birlikte bu biyoaktiviteye büyük katkıda bulunduğunu gösterdi. Sonuçlarımız ayrıca *S. verticillata* L.'nin metanol ekstraktının, ilaç ve gıda endüstrilerinde kullanım için yüksek kaliteli bir antioksidan olduğunu ileri sürmektedir.

*Sorumlu yazar:
Emine KILIÇKAYA SELVİ
Department of Chemistry, Faculty of Arts and Sciences, Recep Tayyip Erdogan University, 53100 Rize, TÜRKİYE
✉: emine.selvi@erdogan.edu.tr
Cep telefonu : +90 (505) 243 39 72

Anahtar kelimeler: DPPH, toplam fenolik, toplam flavonoid, *S. tomentosa* Mill. *Salvia verticillata* L., *Phlomis lychnitis* L..

INTRODUCTION

Salvia verticillata L., *S. tomentosa* Mill., and *Phlomis lychnitis* L. belong to the Lamiaceae family, which is an important family of the flowering plants because of the valuable essential oils and secondary metabolites contained in its various species (Baser, 2002; Flamini et al., 2007). Comprising more than 900 species, *Salvia* is considered to be one of the largest genera in Lamiaceae (Walker et al., 2004).

Members of this genus are known to be used as medicinal plants to treat various conditions, such as cold, flu, tonsillitis, diarrhea, gonorrhoea, hemorrhoids, and eye diseases in many parts of Turkey (Rizk et al., 1995; Polat & Satil, 2012). Studies on this genus have revealed that *Salvia* spp. have various properties, such as antimicrobial (Ozkan et al., 2003; Tepe et al., 2004; Cardile et al., 2009; Tenore et al., 2011), antibacterial (Haznedaroglu et al., 2001; Tepe et al., 2005), antioxidant (Kolak et al., 2009), insecticidal (Copping & Menn, 2000; Karakoc, et al., 2006; Selvi, et al., 2019), antitumor (Cardile et al., 2009), and antidiabetic (Cardile et al., 2009) activities.

Members of this genus have been the subject of several research studies for their bioactivities and bioactive compounds, such as phenols and their derivatives, terpenes, phenolic carbonyls, acids/esters, hydrocarbons, and volatile oils (Tenore et al., 2011). Rosmarinic acid was found as a main phenolic compound in *Stevia* species (Lu & Foo 2002; Askun et al., 2009; Dincer et al., 2012). Moreover, catechin, caffeic acid, vanillic acid, ferulic acid, rutin, apigenin, quercetin, and luteolin were also identified in different *Salvia* species (Lu & Foo, 2002; Papageorgiou et al., 2008; Askun et al., 2009). Chlorogenic acids, benzoic acids, and rosmarinic acids were found as the main phenolic compounds in *Phlomis* species (Zhang & Wang, 2009; Sarikurkcu et al., 2014; Sarikurkcu et al., 2015).

The purposes of this study were to 1) determine total phenolic content (TPC), and total flavonoid content (TFC) in ethyl acetate and methanol extracts of selected plants, 2) assess the antioxidant activity of the extracts as determined using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), and 3) explore the correlation among antioxidant activity and TPC and TFC.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals and solvents: Phenolic standards (analytical grade) were obtained from Sigma–Aldrich Corporation (St. Louis, MO, USA). Other chemicals were supplied by Merck (Darmstadt, Germany).

Sample preparation: *Salvia verticillata* L. and *S. tomentosa* Mill. were collected from Antalya, Turkey, in April and May 2018, respectively. Dried aerial parts of *P.*

lychnitis L. were purchased from a market in Konya, Turkey, in May 2018.

Solvent extractions: All plant samples were air dried together and the dried samples were powdered using a blender. The resulting powder was divided into two flasks at 10 g/flask. Each sample was defatted with 100 mL chloroform at 30°C for 30 min. Two different solvents (methanol and ethyl acetate) from each residue were extracted using 2 x 40 mL solvent at 40°C for 1 h in an ultrasonic bath (Bandelin, Germany). Extraction was repeated twice for each adequate amount of solvent, and the resulting extracts were combined. The extracts were then filtered and concentrated by rotary evaporation at 40°C. The stock solution of each crude extract was resuspended in methanol and stored at below 4°C until analyses.

Determining total phenolic content: TPC contained in the extracts were analyzed using Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Singleton, 1985). Gallic acid and quercetin were used to generate a standard curve ranging from 0.015 to 0.250 mg/mL ($r^2 = 0.999$). Briefly, 20 μ L methanolic plant extract, 400 μ L 0.5 N Folin-Ciocalteu reagent, and 680 μ L distilled water were combined and vortexed. After incubating for 3 min, 400 μ L 10% sodium carbonate was added and vortexed. After 2 h, the absorbance of the mixture was measured at 760 nm. The concentration of TPC was calculated as mg of gallic acid equivalent (GAE) and as mg of quercetin equivalent (QE), respectively, for phenolic and flavonoid compounds/g of dried extract. All measurements were conducted in triplicate.

Determining total flavonoid content: TFC was analyzed using the aluminum chloride ($AlCl_3$) method as described by Marcucci (1998). First, 0.1 mL 10% $AlCl_3$, 0.1 mL 1 M potassium acetate, and 4.3 mL 80% ethyl alcohol were added to 0.5 mL methanolic plant extract. The samples were incubated for 40 min at room temperature, and the absorbance of the mixture was measured at 415 nm. Quercetin was used for the standard calibration curve. The concentration of TFC was calculated as QE/g dried weight (dw). All measurements were conducted in triplicate.

Assay for scavenging free radicals: Radical scavenging activity of the extracts against DPPH was spectrophotometrically studied at 517 nm (Molyneux, 2004). Briefly, different concentrations of 0.75 mL methanolic plant extracts were mixed with 0.75 mL 0.1 mM DPPH in methanol, well vortexed, and incubated for 50 min at room temperature. Gallic acid and quercetin were used as representative phenolic and flavonoid standards. The results are expressed as SC_{50} (mg/ mL), which indicates the concentration of extracts required to inhibit 50% of the radicals.

Statistical analyses: The results are presented as the mean values and standard deviations of three replicates. SC₅₀ values were determined using a linear regression analysis (Microsoft Excel for Windows, v. 2010). Data were analyzed using SPSS v. 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) and statistical significance between mean values was assessed using Tukey's test at a 95% confidence level. $P < 0.01$ was considered significant.

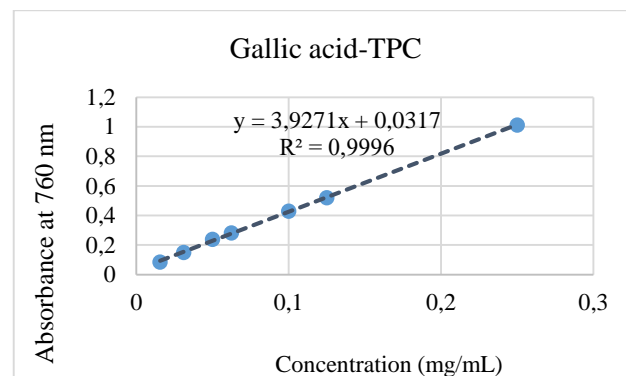
RESULTS AND DISCUSSION

Total phenolic content: Organic solvents at different polarities, such as methanol, ethanol, ethyl acetate, acetonitrile, acetone, hexane, n-butanol, diethyl ether, and water, are normally used for the extraction of bioactive compounds from plants (Naczki & Shahidi, 2004; Stalikas et al., 2007). Among those solvents, methanol was the most efficient solvent for the extraction of phenolic compounds from the plants used in our study (Dhawan & Gupta, 2017) because the phenolic composition of these plant samples is mostly soluble and stable in this solvent. Ethyl acetate exhibited a good dissolving capacity for most of the flavonoids (flavon and flavonols) and phenolic acids in various studies (Hayder et al., 2004; Dmitrienko et al., 2012; Mokrani & Madani, 2016; Sukeksi & Sarah, 2016); therefore, plant extractions were performed using these solvents.

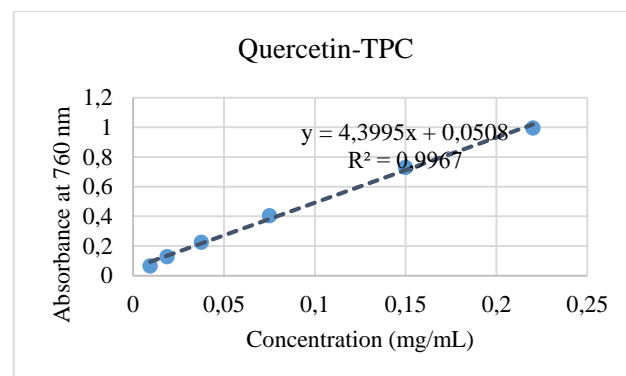
TPC in the methanol and ethyl acetate extracts of *S. verticillata* L., *S. tomentosa*, and *P. lychnitis* L. were determined spectroscopically (Table 1). The levels of phenolic compounds ranged from 32.01 to 347.04 mg GAE/g, and between 17.85 and 213.02 mg QE/g ($r^2 = 0.999$) for both phenolic standards (Supplemental Fig. 1-2). The highest TPC was in the methanol extract of *S. verticillata*; the lowest was in the ethyl acetate extract of *P. lychnitis*.

Tepe et al. (2005) have investigated different solvents for extraction of TPC in *S. tomentosa*, such as hot water, methanol, hexane, and dichloromethane, and found that TPC in this plant ranges from 10 to 275 µg GAE/mg. The highest TPC was recorded using hexane, followed by polar subfraction of methanol extract, polar subfraction of deodorized methanol extract, and polar subfraction of deodorized hot water extract. The lowest amount of TPC was obtained from the nonpolar subfraction of the deodorized methanol extract. Dinçer et al. (2013) have used cultivated and wild *S. tomentosa* plants to compare their TPC and antioxidant properties. Methanolic aqueous (80%) was used for extraction of TPC, which they determined to be between 49.27 and 63.26 mg GAE/g dw. TPC from the cultivated plants was higher than that from the wild plants. Tosun et al. (2009) have measured the TPC levels in *S. aethiopsis*, *S. candidissima*, *S. limbata*, *S.*

microstegia, *S. nemorosa*, *S. pachystachys*, *S. verticillata*, and *S. virgate* using gallic acid as the standard. The results of their study showed that the highest TPC levels are from the methanol extract of *S. verticillata* (167.1 mg GAE/g dw), followed by that from *S. virgate* (101.2 mg GAE/g dw), *S. candidissima* (100.3 mg GAE/g dw), and *S. microstegia* (50.3 mg GAE/g dw).



Supplemental Figure 1. Calibration curve of standard gallic acid for determination of TPC.



Supplemental Figure 2. Calibration curve of standard quercetin for determination of TPC.

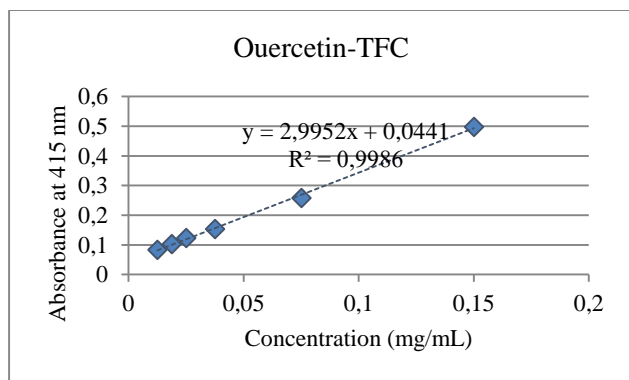
According to another TPC bioassay study using a methanol extract of *S. verticillata* L. var. *amasiaca*, and *S. microstegia*, *S. verticillata* L. var. *amasiaca* had TPC of 119.45 mg GAE/g, and *S. microstegia* had TPC at 118.08 mg GAE/g dw (Erbil et al., 2015).

Taşkın et al. (2018) have assessed the methanol extract of *P. pungens* and have found that the plant contains 30.0 mg GAE/g TPC. Previous studies have indicated that hydromethanolic extracts of *P. biloba* Desf. leaves and flowers result in 153.46 ± 1.36 µg GAE/mg from the leaves and 81.33 ± 2.29 µg GAE/mg from the flowers (Merouane et al., 2019). Compared with other species of *P. biloba* Desf., the methanolic and water extracts of *P. armeniaca* were 55.22 ± 1.95 and 54.39 ± 2.77 µg GAE/mg, respectively (Sarıkurkcu et al., 2015). In another study, TPCs were 50.83 ± 1.11 and 50.90 ± 0.47 , respectively, in the methanolic and water extracts from *P. nissolii*, while *P. pungens* var. *pungens* yielded 41.10 ± 2.69 and $57.68 \pm$

1.52 µg GAE/mg, respectively, in the methanolic and water extracts (Sarıkurkcu et al., 2014).

These species showed significant differences in terms of TPC levels. For example, the TPC of *S. tomentosa* extracted using different solvents varies widely from 10 to 275 µg GAE/mg (Tepe et al. 2005; Erdogan-Orhan et al. 2010); however, we determined it to be between 62.18 and 125.44 mg GAE/g dw and suggest that the difference is related mainly to the extraction procedures. In fact, our study used methanol and ethyl acetate, while earlier studies used other solvents as well, such as hot water, hexane, and dichloromethane. In addition, the differences in the various results may be a result of different geographical locations of the plants, environmental and ecological variations (temperature, climate, diseases, etc.), harvest year, and growing conditions (Papageorgiou et al., 2008; Kallithraka et al., 2009). Dinçer et al. (2013) have reported TPC of *S. tomentosa* decreased in the harvest year, and growing condition. These differences can be explained by different climatic conditions.

Total flavonoid content: Quercetin was used as a representative standard with a linear calibration curve at $r^2 = 0.999$ for TFC (Supplemental Fig. 3). The highest TFC were in the methanol extract of *S. verticillata* at 51.90 ± 1.64 mg QE/g, while the lowest were in the ethyl acetate extract of *S. tomentosa* at 7.78 ± 0.20 mg QE/g ($p < 0.01$) (Table 1).



Supplemental Figure 3. Calibration curve of standard quercetin for determination of TFC.

Miliauskas et al. (2007) have investigated TFCs in *S. officinalis*, *S. sclarea*, *S. glutinosa*, and *S. pratensis* and found that *S. glutinosa* has the highest TFC at 5.7 ± 0.3 mg/g extract rutin equivalent. Tusevski et al. (2014) have reported the TFCs in methanol extracts of *S. nemorosa* L., *S. ringens* Sibth. & Sm., and *S. sclarea* L. and found that *S. ringens* Sibth. & Sm. has the levels at 49.43 ± 1.35 mg catechin/g dw. In another report, the TFC in the methanol extract of *P. biloba* Desf. leaf (53.84 ± 0.24 µg QE/mg) was significantly higher than that in the plant's flower (14.86 ± 0.21 µg QE/mg) (Marouane et al., 2019).

Because of the differences in the procedures used to quantify TFC, reference compounds used (e.g., catechin

and rutin), and different plant species used, it is not accurate to directly compare the data from the results of other studies with those from our study.

DPPH radical scavenging activity of the extracts: The free-radical scavenging activity of the extracts was determined using the DPPH test. Gallic acid and quercetin were used for the phenolic standards for the SC₅₀ values 0.002 ± 0.000 and 0.003 ± 0.000 mg/mL, respectively.

The methanol extract from *S. verticillata*, the strongest DPPH scavenging activity, was recorded with the lowest SC₅₀ value of 0.010 ± 0.000 mg/mL. Similarly, the same extract had the highest TFCs and TPCs. The ethyl acetate extract from *S. tomentosa* had the lowest scavenging activity with an SC₅₀ value of 0.55 ± 0.01 mg/mL (Table 1).

Table 1. TPC, TFC and radical scavenging activity of the extracts

Extracts	TPC		TFC	DPPH
	mgGA/g*	mgQ/g*	mgQ/g**	SC ₅₀ (mg/mL)
<i>S. verticillata</i> - MeOH	347.04±1.42	213.02±0.92	51.90±1.64	0.01±0.00
<i>S. verticillata</i> - EtOAC	116.01±1.04	69.28±0.67	18.52±0.77	0.07±0.00
<i>P. lychitis</i> , - MeOH	56.76±0.42	33.70±0.38	21.74±0.18	0.06±0.00
<i>P. lychitis</i> - EtOAC	32.01±0.31	17.85±0.20	8.94±0.35	0.07±0.03
<i>S. tomentosa</i> - MeOH	125.44±0.65	75.41±0.42	38.73±0.31	0.03±0.00
<i>S. tomentosa</i> - EtOAC	62.18±0.46	37.36±0.26	7.78±0.20	0.55±0.01
Gallic acid				0.002±0.000
Quercetin				0.003±0.000

*Total phenolics are expressed in mg GAE/g dried extract and mg QE/g dried extract.

** Total flavonoids are expressed in mg QE/g dried extract.

GAE, Gallic acid equivalent; QE, quercetin equivalent; DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; SC₅₀(mg/mL), which indicates the concentration of extracts required to inhibit 50% of the radicals.

Examination of the antioxidant potential of 11 *Salvia* species has determined based on DPPH scavenging activity. The assessment found that *S. santolinifolia*, *S. nemorosa*, *S. atropatana*, and *S. eremophila* have the most DPPH scavenging activity with the highest TPC (Firuzi et al., 2013). Nickavar et al. (2007) have reported the DPPH scavenging activity of *S. hypoleuca* and four other *Salvia* species. All the ethanolic extracts show free-radical scavenging activity, and *S. verticillata* and *S. virgata* were the most active species with SC₅₀ values of 23.53 and 27.01 µg/mL, respectively. In addition, the extracts were investigated for their TFCs, and the ethanol extracts of *S. hypoleuca* (TFC = 53.16 ± 1.95 µg/mg) and *S. reuterana* (TFC = 46.97 ± 4.43 µg/mg) had the highest TFCs. No favorable correlation was detected between free-radical scavenging potency and TFC. In another report, the methanol extracts of *S. verticillata* L. var. *amasiaca* and *S. microstegia* exhibited antioxidant effects against DPPH and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) free-radical agents (Erbil et al., 2015). In their study on the antioxidant activity of eight species of *Salvia*, Tosun et al. (2009) have reported that the antioxidant activity of eight species of *Salvia*. Methanol extracts of *S. verticillata* and *S. microstegia* showed higher DPPH free radical scavenging activity than other extracts. Another study has reported that the methanol extracts of *S. fruticosa* Mill., *S.*

pomifera Mill., and *S. tomentosa* Mill. within the Marmara region of Turkey show that *S. pomifera* collected from Topağac, Marmara, has the highest DPPH free-radical scavenging activity with an SC₅₀ value of 450.51 µmol trolox equivalent/100 g dw, while the that of *S. fruticosa* from the Kumbağ forest camp, Tekirdağ, has an SC₅₀ value of 287.57 µmol trolox equivalent/100 g dw (Erdogan et al., 2014). Merouane et al. (2019) have reported the antioxidant properties of *P. biloba* Desf. leaves and flowers of using 80% methanolic extract. The extract of the leaves has higher DPPH free-radical scavenging activity with an SC₅₀ value of 47.78 ± 1.12 µg/mL than that of the flower with 90.85 ± 1.04 µg/mL.

In this study, correlation analyses between among scavenging activity (DPPH) and TPC and TFC levels were conducted. The correlation coefficients (r) are shown in Table 2. Significant positive linear correlations (Table 2) were established between TPC and TFC (r = 0.898; p < 0.01). Strong positive correlations (Table 2) were also found between DPPH and TFC (r = 0.904; p < 0.01) and TPC (r = 0.963; p < 0.01). This relationship indicated that flavonoids together with other phenolic compounds contribute greatly to this bioactivity. In accordance with the previous study, phenolic compounds significantly contributed to the antioxidant activity in the medicinal plants used in the study (Cai, et al., 2004; Apak et al., 2006), which suggested that the methanol extract of *S. verticillata* L. had higher free-radical scavenging activity and TPC and TFC than other extracts; therefore, the methanol extract of *S. verticillata* L., has proved to be a high-quality source of natural antioxidants for use in the medical and food industries.

Table 2. Correlation analysis between scavenging activity and TPC, TFC.

r	TFC	TPC
TPC	0.898**	
DPPH	0.904**	0.963**

r, Correlation coefficient,

*The values of DPPH assay were taken as 1/SC₅₀.

**Correlation is significant at p < 0.01.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Prof. Dr. Vagif Atamov from the Department of Biology, Recep Tayyip Erdogan University in Rize, Turkey, for his evaluation of the studied plants.

REFERENCES

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. & Erça, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 292-304.

- Askun, T., Tumen, G., Satil, F. & Ates, M. (2009). Characterization of the phenolic composition and antimicrobial activities of Turkish medicinal plants. *Pharmaceutical Biology*, 14(47), 563-571.
- Baser, K.H.C. (2002). Aromatic biodiversity among the flowering plant taxa of Turkey. *Pure and Applied Chemistry*, 74, 527-545.
- Cai, Y.Z., Luo, Q., Sun, M. & Corke, H. (2004). Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 Chinese medicinal plants associated with anticancer. *Life Science*, 74, 2157-2184.
- Cardile, V., Russo, A., Formisano, C., Rigano, D., Senatore, F., Arnold, N. A. & Piozzi, F. (2009). Essential oils of *Salvia bracteata* and *Salvia rubifolia* from Lebanon: chemical composition, antimicrobial activity and inhibitory effect on human melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 126, 265-272.
- Copping, L.G. & Menn, J.J. (2000). Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*, 56, 651-676.
- Dhawan, D. & Gupta, J. (2017). Comparison of Different Solvents for Phytochemical Extraction Potential from *Datura metel* Plant Leaves. *International Journal of Biological Chemistry*, 11(1), 17-22.
- Dincer, C., Topuz, A., Sahin, N.H., Ozdemir, K.S., Cam, I. Bç, Tontul, I., Gokturk, R.S. & Ay, S.T. (2012). A comparative study on phenolic composition, antioxidant activity and essential oil content of wild and cultivated sage (*Salvia fruticosa* Miller) as influenced by storage. *Industrial Crops and Products*, 39, 170-176.
- Dinçer, C., Tontul, İ., Çam, İ.B., Özdemir, K.S., Topuz, A., Şahin-Nadeem, H., Ay, S.T. & Gökürk, R.S. (2013). Phenolic composition and antioxidant activity of *Salvia tomentosa* Miller: Effects of cultivation, harvesting year and storage. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37, 561-567.
- Dmitrienko, S.G., Kudrinskaya, V.A. & Apyari, V.V. (2012). Methods of extraction, preconcentration, and determination of quercetin. *Journal of Analytical Chemistry*, 67(4), 299-311.
- Erbil, N. & Digrak, M. (2015). Total phenolic and flavonoid contents, antimicrobial and antioxidant properties of *Salvia verticillata* L. var. *amasiaca* and *Salvia microstegia* Boiss & Bal from Turkish flora. *Journal of Microbiology and Antimicrobial Agents*, 1(1), 23-29.
- Erdogan, O.I., Baki, E., Senol, S. & Yilmaz, G. (2010). Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75, 1491-1501.
- Erdoğan, S.S., Karık & Başer, K.H. (2014). The determination of antioxidant activity of some sage populations of in the Marmara Region. *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, special Issue: 2.
- Firuzi, O., Miri, R., Asadollahi, M., Eslami, S. & Jassbi, R. (2013). Cytotoxic, ntioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven *Salvia* species from Iran. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12(4), 801-810.
- Flamini, G., Cioni, P.L., Morelli, I. & Bader, A. (2007). Essential oil of the aerial parts of the three *Salvia* species from Jordan: *Salvia lanigera*, *S. spinosa* and *S. syriaca*. *Food Chemistry*, 100, 732-735.
- Hayder, N., Kilani, A. A., Ammar, S., Mahmoud, R. B., Ghedira, A. & Ghedira, K. C. (2004). Antigenotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. *Mutation*

- Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, **564**, 89-95.
- Haznedaroglu, M. Z., Karabay, N. U. & Zeybek, U. (2001).** Antibacterial activity of *Salvia tomentosa* essential oil. *Fitoterapia*, **72**, 829-831.
- Kallithraka, S., Salacha, M.I. & Tzourou, I. (2009).** Changes in phenolic composition and antioxidant activity of white wine during bottle storage: Accelerated browning test versus bottle storage. *Food Chemistry*, **113**, 500-505.
- Karakoc, O. C., Gokce, A. & Telci, I. (2006).** Fumigant activity of some plant essential oils against *Sitophilus oryzae* L., *Sitophilus granaries* L. (Col.: Curculionidae) and *Acanthoscelides obtectus* Say. (Col.: Bruchidae). *Turk Entomoloji Dergisi*, **30**, 123-135.
- Kılıçkaya Selvi, E., Usta, A. & Akner, M.M. (2019).** Larvicidal activity of some medicinal plants naturally growing in Turkey against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Anatolian Environmental & Animal Sciences*, **4**(1), 53-59.
- Kolak, U., Kabouche, A., Ozturk, M., Kabouche, Z., Topçu, G. & Ulubelen, A. (2009).** Antioxidant diterpenoids from the roots of *Salvia barrelieri*. *Phytochemical Analysis*, **20**, 320-327.
- Lu, Y. & Foo, L. (2002).** Polyphenolics of *Salvia* a review. *Phytochemistry*, **59**, 117-140.
- Marcucci, M.C., Woisky, R.G. & Salatino, A. (1998).** Use of aluminum chloride in the flavonoids quantification of propolis samples, *Mensagem Doce*, (in Portuguese). **46**, 3-9.
- Merouane, A., Saadi, A., Noui, A. & Bader, A. (2019).** Evaluation of phenolic contents and antioxidant properties of the leaves and flowers of *Phlomis biloba* Desf. *International Food Research Journal*, **26**(1), 167-173.
- Miliauskas, G., Venskutonis, P.R. & Van Beek, T.A. (2004).** Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, **85**, 231-237.
- Mokrani, A. & Madani, K. (2016).** Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, **162**, 68-76.
- Molyneux, P. (2004).** The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarın Journal of Science and Technology*, **26**(2), 211-219.
- Naczka, M. & Shahidi, F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95-111.
- Ozkan, G., Sagdic, O. & Ozcan, M. (2003).** Note: inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations. *Food Science and Technology International*, **9**, 85-88.
- Papageorgiou, V., Gardeli, C., Mallouchos, A., Papaioannou, M. & Komaitis, M. (2008).** Variation of the chemical profile and antioxidant behavior of *Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia fruticosa* Miller grown in Greece. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 7254-7264.
- Polat, R. & Satil, F. (2012).** An ethnobotanical survey of medicinal plants in Edremit Gulf (Balıkesir-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, **139**, 626-641.
- Rizk, A. & El-Ghazaly, G. (1995).** Medicinal and poisonous plants of Qatar; *Science and Applied Research Centre*, 140-141.
- Sarikurkcu, C., Uren, M.C., Tepe, B., Cengiz, M. & Kocak, M.S. (2015).** *Phlomis armeniaca*: Phenolic compounds, enzyme inhibitory and antioxidant activities. *Industrial Crops and Products*, **78**, 95-101.
- Sarikurkcu, C., Uren, M.C., Tepe, B., Cengiz, M. & Kocak, M.S. (2014).** Phenolic content: enzyme inhibitory and antioxidative activity potentials of *Phlomis nissolii* and *P. pungens* var. *pungens*. *Industrial Crops and Products*, **62**, 333-340.
- Singleton, V. & Rossi, Jr. J.A. (1965).** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphothungstic acid reagents. *American Journal of Enology & Viticulture*, **16**(3), 144-158.
- Stalikas, C.D. (2007).** Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, **30**, 3268-3295.
- Sukeksi, L. & Sarah, M. (2016).** Characterizations and extraction of polyphenols from residual pulp of pink guava as source of antioxidants. *Journal of Engineering and Applied Sciences*, **11**, 5209-5216.
- Taşkın, T., Cam, M.E., Bulut, G., Hazar-Yavuz, A.N., Kabasakal, L. & Bitiş, L. (2018).** Antioxidant and anti-inflammatory activities of *Phlomis pungens* and *Coridothymus capitatus*. *Marmara Pharmaceutical Journal*, **22**(1), 80-85.
- Tenore, G.C., Ciampaglia, R., Arnold, N.A., Piozzi, F., Napolitano, F., Rigano, D. & Senatore, F. (2011).** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology*, **49**, 238-243.
- Tepe, B., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M. & Polissiou, M. (2005).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, **90**, 333-340.
- Tepe, B., Donmez, E., Unlu, M., Candan, F., Daferera, D., Vardar-Unlu, G., Polissiou, M. & Sokmen, A. (2004).** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia crytantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chemistry*, **84**, 519-525.
- Tosun, M., Ercisli, S., Sengul, M., Ozer, H., Polat, T. & Ozturk, E. (2009).** Antioxidant properties and total phenolic content of eight *Salvia* from Turkey. *Biological Research*, **42**, 175-81.
- Tusevski, O., Kostovska, A., Iloska, A., Trajkovska, L. & Simic, G. S. (2014).** Phenolic production and antioxidant properties of some Macedonian medicinal plants. *Central European Journal of Biology*, **9**(9), 888-900.
- Walker, J.B., Sytsma, K.J., Treutlein, J. & Wink, M. (2004).** *Salvia* (Lamiaceae) is not monophyletic: implications for the systematics, radiation, and ecological specializations of *Salvia* and tribe Menthaeae. *American Journal of Botany*, **91**, 1115-1125.
- Zhang, Y. & Wang, Z. Z. (2009).** Phenolic composition and antioxidant activities of two *Phlomis* species: a correlation study. *Comptes Rendus Biologies*, **332**(9), 816-826.



Adsorption of Copper (II) from Aqueous Solution by Using Carbonized Peanut Hull: Determination of the Equilibrium, Kinetic and Thermodynamic Parameters

Gülşad USLU ŞENEL

Department of Environmental Engineering, Firat University, 23100 Elazığ, Turkey

Geliş/Received: 10.01.2020

Kabul/Accepted: 17.04.2020

How to cite: Uslu Şenel, G. (2020). Adsorption of Copper (II) from Aqueous Solution by Using Carbonized Peanut Hull: Determination of the Equilibrium, Kinetic and Thermodynamic Parameters. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 131-137.

Atıf yapmak için: Uslu Şenel, G. (2020). Karbonize Fıstık Kabuğu Kullanılarak Sulu Çözeltilerden Bakır (II)'nin Adsorpsiyonu: Denge, Kinetik ve Termodinamik Parametrelerin Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 131-137.

*[id](https://orcid.org/0000-0002-5304-9436): <https://orcid.org/0000-0002-5304-9436>

***Corresponding author's:**

Gülşad USLU ŞENEL
Department of Environmental Engineering,
Firat University, 23100 Elazığ, Turkey.
✉: guslu@firat.edu.tr
Mobile telephone : +90 (533) 748 35 53
Telephone : +90 (424) 237 00 00/8403

Abstract: In this study, the effect of temperature, pH, initial metal concentration and adsorbent dosage on Cu(II) adsorption onto carbonized peanut hull (PHC) was investigated. Activated carbon was prepared from peanut hull. It was produced by carbonization in carbon dioxide atmosphere at 500°C for 1.0 h. The maximum Cu (II) adsorption capacity was obtained as 168.16 mg/g for 500 mg/L initial Cu (II) at pH = 4.0 and 60 °C. The Freundlich and Langmuir adsorption models were used for the mathematical description of the adsorption equilibrium. The best interpretation for the experimental data was given by the Freundlich isotherm and the maximum adsorption capacity was obtained. Batch adsorption models, based on the assumption of the pseudo-first and pseudo-second order mechanism, were applied to examine the kinetics of the adsorption. Kinetic data fitted the pseudo-second kinetic order model. Thermodynamic functions, the change of free energy (ΔG°), enthalpy (ΔH°) and entropy (ΔS°) of copper adsorption on PHC were calculated as $-23.21 \text{ kJmol}^{-1}$ (at 60°C), 15.94 kJmol^{-1} and $117.59 \text{ kJmol}^{-1} \text{ K}^{-1}$, respectively, indicating the spontaneous, endothermic and the increased randomness nature of Cu^{2+} adsorption. The results show that adsorption of Cu (II) on PHC is an.

Keywords: Adsorption, carbonization, equilibrium, kinetic, peanut hull carbon (PHC), thermodynamic.

Karbonize Fıstık Kabuğu Kullanılarak Sulu Çözeltilerden Bakır (II)'nin Adsorpsiyonu: Denge, Kinetik ve Termodinamik Parametrelerin Belirlenmesi

Öz: Bu çalışmada, karbonize fıstık kabuğu (PHC) üzerine Cu (II) adsorpsiyonuna sıcaklık, pH, başlangıç metal konsantrasyonu ve adsorban dozunun etkisi araştırılmıştır. Aktif karbon fıstık kabuğundan hazırlanmıştır. PHC, karbon dioksit varlığında 500 ° C'de 1.0 saat süresince karbonizasyon ile üretilmiştir. Maksimum Cu (II) adsorpsiyon kapasitesi, pH = 4.0'de 60 °C'de ve 500 mg/L başlangıç Cu (II) iyon konsantrasyonunda 168.16 mg/g olarak bulunmuştur. Adsorpsiyon dengesinin matematiksel olarak ifadesinde Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon modelleri kullanılmıştır. Deneysel veriler için en iyi Freundlich izotermi ile verildi ve maksimum adsorpsiyon kapasitesi elde edildi. Adsorpsiyon kinetiğini incelemek için yalancı birinci ve yalancı ikinci derece düzeneğinin varsayımına dayanan bir seri adsorpsiyon modelleri uygulanmıştır. Kinetik veriler, yalancı ikinci derece kinetik düzen modeline uymuştur. PHC üzerinde bakır adsorpsiyonunun termodinamik fonksiyonları, serbest enerji değişimi (ΔG°), entalpi (ΔH°) ve entropi (ΔS°) değerleri sırasıyla $-23.21 \text{ kJmol}^{-1}$ (60°C'de), 15.94 kJmol^{-1} ve $117.59 \text{ kJmol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Cu^{2+} adsorpsiyonu endotermik bir reaksiyondur. Sonuçlar, Cu (II) iyonlarının adsorpsiyonunda PHC kullanımının bir alternative olacağını göstermiştir.

***Sorumlu yazar:**

Gülşad USLU ŞENEL
Firat Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,
Çevre Mühendisliği Bölümü, 23100 Elazığ,
Turkey.
✉: guslu@firat.edu.tr
Mobile telephone : +90 (533) 748 35 53
Telephone : +90 (424) 237 00 00/8403

Anahtar kelimeler: Adsorpsiyon, denge, fıstık kabuğu karbonu, karbonizasyon, kinetik, termodinamik.

INTRODUCTION

The water pollution by toxic heavy metals through the discharge of the industrial waste is a world-wide environment problem (Jiang et al., 2009). Heavy metal ions such as cobalt, copper, nickel, chromium and zinc are detected in the waste streams from mining operations, battery manufacturing processes, the production of paints and pigments, ammunition, ceramic and glass industries tanneries, electronics, electroplating and petrochemical industries, as well as in textile mill products (Argun & Dursun, 2008; Dursun, 2006). From the environmental risk and health hazards point of views, one of the most dangerous heavy metals is copper. Copper is heavily used metal in industries such mining and smelting, brass manufacture, electroplating industries, petroleum refining and excessive use of copper based agrichemicals mining. These industries produce much wastewater and sludge containing Cu(II) ions with various concentrations, which have negative effects on the water environment (Demirbaş et al., 2009). Although copper is an essential micronutrient and is required by the body in very small amounts (20-80 µg/kg of body weight per day), excess exposure to copper can cause acute as well as chronic effects (WHO, 2006). Hence, the removal of copper from aqueous solutions is extremely important.

Heavy metal removal from aqueous solutions has been commonly carried out by several processes: chemical precipitation, solvent extraction, flotation, ion-exchange, electrolytic recovery, membrane filtration, biological process, adsorption, biosorption (Wang et al., 2007; Çetin & Pehlivan, 2007; Giwa & Bello, 2007). Most of these methods are extremely expensive or inefficient, especially for a large amount of solution of relatively low concentrations (Jiang et al., 2009). Adsorption is highly effective and economical method to remove heavy metal ions from aqueous solutions (Özçimen & Ersoy-Meriçboyu, 2009). Among these processes, the adsorption with the selection of a suitable adsorbent can be an effective technique for the removal of heavy metals from wastewater (Bayat, 2002). The respective and widely used adsorbent material in the adsorption processes is activated carbon. Even though it has a high adsorption capacity, surface area and has a micro porous structure; it is restricted to use due to its relatively high price; high operation costs, and problems with regeneration for the industrial scale applications. This led to a search directed to developing the low-cost and locally available adsorbent materials with the maximum adsorption capacity (Sölenner et al., 2008; Dursun et al., 2005; Özer et al., 2007).

The aim of this study is the evaluation of peanut hull carbon an effective, low cost, biomass adsorption media for the removal of metal ions from dilute aqueous waste streams. In order to achieve the aim of developing an effective adsorber, the parameters and mechanisms affective metal ion capture by peanut hull carbon must be identified and the

physical and chemical limitations of the proposed technology assessed. A few researches in literature studied on copper binding ability onto PHC and they investigated the effect of pH on adsorption. However there is still lack of the studies focusing on temperature effects on the adsorption of copper (II) onto PHC. In earlier works, peanut hull carbon obtained from different methods to use as an adsorbent was studied for removing heavy metals such as copper (II) (Periasamy & Namasivayam, 1996) and nickel (II) (Gong et al., 2005) ions and dyes (Gong et al., 2005). The present study, deals with understanding of the temperature effects on the biosorption and one of the main objective of the work is to investigate the feasibility of using PHC in the batch model for adsorption of copper (II). The sorption phenomena were expressed by the Langmuir and Freundlich adsorption models and model constants were evaluated depending on temperature. As there is no information about the kinetic analysis of the adsorption of copper (II) by PHC, the experimental data was also analyzed using the pseudo-first and pseudo second-order adsorption kinetic models and kinetic constants were calculated. An understanding of the kinetics of sorption gives useful knowledge for on-site full-scale applications. Since the evaluation of the heat change of the adsorption process is very important for reactor design, the thermodynamics of the adsorption process was also investigated.

Equilibrium modeling in a batch system:

Adsorption is a well-known equilibrium separation process for wastewater treatment. Adsorption isotherms are the equilibrium relationships between the concentrations of adsorbed metal and metal in solution at a given temperature. The well-accepted adsorption isotherm models of Freundlich and Langmuir have successfully described Cu (II) adsorption isotherms.

The well-known expression of the Langmuir model is given by Equation (1)

$$q_{eq} = \frac{q_{max} K C_{eq}}{1 + K C_{eq}} \quad (1)$$

where K is the adsorption equilibrium constant including the affinity of binding sites (L mg⁻¹), C_{eq} and q_{eq} are unadsorbed metal ions in solution and adsorbed metal ions on the sorbent at equilibrium, respectively. q_{max} is the maximum amount of metal ion per unit weight of adsorbent to form a complex monolayer on the surface (mg g⁻¹) (Langmuir, 1916).

The empirical Freundlich equation based on sorption on a heterogeneous surface is given by Equation (2)

$$q_{eq} = K_F C_{eq}^{1/n} \quad (2)$$

where K_F and n are the Freundlich constants related to the adsorption capacity and adsorption intensity of the sorbent, respectively (Freundlich, 1906; Tewari, 2006).

Kinetic Modelling: The capability of pseudo-first order and pseudo-second order kinetic models were examined in this study. The pseudo-first order equation of Lagergren is generally expressed as follows (Lagergren, 1998):

$$\frac{dq}{dt} = k_1(q_{eq} - q) \quad (3)$$

where q is adsorbed dye quantity per gram of sorbent at any time (mg g^{-1}), k_1 is the rate constant of pseudo-first order sorption (min^{-1}). The integrated form of the differential equation becomes,

$$\log(q_{eq} - q) = \log(q_{eq}) - \frac{k_1}{2,303}t \quad (4)$$

The pseudo-second order kinetic rate equation is expressed as (Ho & Mckay, 1999):

$$\frac{dq}{dt} = k_2(q_{eq} - q)^2 \quad (5)$$

where k_2 is the rate constant of pseudo-second order sorption ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$). For the same boundary conditions the integrated form of Equation (5) becomes

$$\frac{t}{q} = \frac{1}{k_2 q_{eq}^2} + \frac{1}{q_{eq}}t \quad (6)$$

The second order rate constant can be determined from the intercept of the linearized pseudo-second order rate equation.

Thermodynamics of adsorption: In engineering practice, entropy and Gibbs free energy factors should be considered in order to determine what processes will occur spontaneously. The Gibbs free energy change (ΔG°) can be determined using equilibrium constant (The Langmuir constant K_b) (Equation 7)

$$(\Delta G^\circ) = -RT \ln K_b \quad (7)$$

where R is the universal gas constant ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$) and T is the absolute temperature (K), K_b is the equilibrium constant (The Langmuir constant) (Ho & Mckay, 1999; Kara, 2003). The higher negative value of the Gibbs free energy reflects a more energetically favourable adsorption. The equilibrium constant can be used in the Van't Hoff equation to determine the enthalpy (ΔH°) and entropy change of biosorption (ΔS°) as a function of temperature.

$$\ln K_b = \frac{\Delta S^\circ}{R} - \frac{\Delta H^\circ}{RT} \quad (8)$$

MATERIALS AND METHODS

Preparation of peanut hull carbon (PHC): Raw peanut hull material used in this study was obtained from a local market in Elazig, Turkey. It was extensively washed with top water to remove soil and dust, sprayed with distilled water than the raw peanut hulls were prepared by air-drying to environmental equilibrium moisture in the lab on shallow

trays at room temperature followed by grinding and sieve analysis. It was grounded and sieved to 50-100 mesh size (0.34-0.15 mm) to separate the material into discrete particle size ranges. Then, powder of peanut hull (25 g) was placed in a horizontal ceramic tube furnace and heated up to 500 °C at a rate of 5 °C/min. It was left at this temperature to thermally decompose to porous carbonaceous materials for 1 h and than allowed to cool to room temperature in carbon dioxide atmosphere carbon production yield from peanut hull was %25.

Physical and Chemical Characterized of Adsorbent: Characterization of the peanut hull was performed by infrared spectroscopy (IR) and by determination of the BET surface area.

Fourier transforms infrared spectroscopy (FT-IR) was used to determine the vibration frequency changes in the functional groups in the peanut hull. The spectra of PH were measured by on FTIR spectrometer within the range of 500-4000 cm^{-1} wave number. The infrared spectrum of raw PH and PHC were obtained with Mattson 1000 FTIR spectrometer with a pellet of powdered potassium bromide and sample.

Surface area is related to the adsorption capacity of an adsorbent. The BET surface area was determined from nitrogen isotherms using a Micromeritics Flow Sorb II-2300 Surface Area Analyzer. The measured BET surface area for PHC was 41.3 m^2g^{-1} .

The BET surface area was determined from nitrogen adsorption isotherms using a Micromeritics Flow Sorb II-2300 Surface Area Analyzer. The BET surface area of PHC was measured as 41.3 m^2g^{-1} . The infrared spectrum of raw peanut hull and PHC were obtained with a Mattson 1000 FTIR spectrometer with a pellet of powdered potassium bromide and sample.

Chemicals: Metal ion solution was prepared by dissolving 1.0 g/L of stock metal ion solution, which was obtained by dissolving a weight quantity of nitrate salts of the metal (Merck). The pH of the each solution was adjusted to the required value with dilute or concentrated HNO_3 and NaOH solutions before mixing with the PHC. While there was no significant changes observed on pH in the equilibrium, the uptake pH was assumed constant during the experiments. The concentration of residual Cu (II) ions in the adsorption media were determined by using an atomic adsorption spectrophotometer (UNICAM, 929).

Adsorption studies: Copper (II) adsorption studies were performed at various initial concentrations and temperatures at constant 150 rpm shaking glass flasks of 0.25 L containing of 0.1 L copper (II) ion solution at desired concentration including 0.5 g peanut hull carbon using a rotabit shaker from Selecta. Samples 5 mL were taken from mixture during stirring at predetermined time intervals for determining the residual Cu (II) ion concentration in the

solutions. Before analysis, samples were filtered by using blue type whatman filter paper and supernatant fluid was analyzed for the remaining metal ions. All the experiments were carried out in duplicates and average values were used for further calculations. For isotherm studies, a series of flask containing (0.1 L Cu (II) ion solution in the range of 25-500 mg/L were prepared. The weighed amount of 0.5 g PHC was added to each flask and then the mixtures were agitated at constant temperature of 20, 40 and 60 °C. These experiments were carried out at a constant pH of 4.0 for duration 24 h.

RESULTS AND DISCUSSION

Adsorption of copper (II) ion onto peanut hull was investigated as a function of pH, temperature, adsorbent dosage and initial Cu (II) ion situation in a batch stirred reactor in this study. The kinetics and equilibrium results were given as units of adsorbed metal ion concentration at equilibrium result ($C_{ad,eq}$: mg/L), adsorbed metal ion quantity per gram at PHC end unadsorbed metal ion concentration (q_{eq} , g^{-1} , C_{eq} , mg/g, respectively and adsorption yield ($Ads\% = 100 \times (C_o - C_{eq}/C_o)$).

FTIR analysis: The presence of functional groups depends on the treatment procedure of the sample. Figure 1 shows the FT- IR spectrum raw material and peanut hull carbon in the spectroscopic region 4000-500 cm^{-1} . The first peak is centered 3900 cm^{-1} . In the spectra of the carbon materials the band of stretching OH vibrations (3600-3100 cm^{-1}) is due to carbon surface hydroxyl and amino groups. The second broad peak at 1700 cm^{-1} has been assigned to the carboxyl stretching. The decreasing intensity of adsorption band of carboxyl groups at 1700 cm^{-1} may be attributed to the destruction of carboxyl groups during the treatment of peanut hull.

Effect of pH on Cu (II) adsorption: The pH of an aqueous solution is an important controlling parameter in the process of adsorption. The effect of pH on the adsorption capacity of copper (II) ion by PHC was evaluated within the pH range of 2-5.5. Removal of copper (II) ions increases with increasing solution pH and a maximum value was reached at an equilibrium pH of around pH 4 at 100 mg/L initial copper (II) ion concentrations. Experiments were carried out up to pH value of 6 due to the fact that metal precipitation occurred at higher pH values. At very low pH values (pH=2-3), copper (II) ion adsorption was found to be very low due to competition between H_3O^+ and copper (II) ions for the adsorption sites. In addition when the pH increases, there is a decrease in positive surface charge, which results in a lower electrostatic repulsion between the positively charged metal ion and the surface of PHC, favoring adsorption. Loading of copper (II) ions onto PHC also found to increase till pH 4, remained constant till pH 5 and beyond pH 6 hydroxide precipitations took place, which

in addition to adsorption contributes to the removal of metal ion.

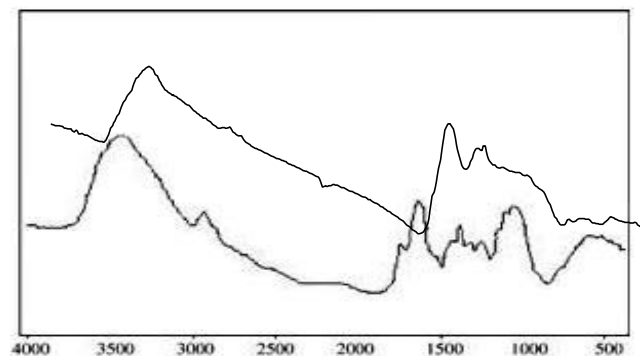


Figure 1. The IR spectrum of the peanut hull.

Effect of temperature Cu (II) adsorption: The effect of temperature Cu (II) uptake capacity onto PHC was studied at 100 mg/L initial metal ion concentration. The variation of equilibrium uptake with temperature was given in Table 1. Results given in Table 1 clearly showed that initial sorption of Cu (II) ion occurred very rapidly and reach equilibrium in 100 min for 100 mg/L initial Cu (II) ion concentrations at 20, 40 and 60°C studied. Figure 2 shows that the adsorption of Cu (II) ions onto PHC as a function of contact time at all temperatures. Adsorption studies were carried out for 24 h and it was observed that, the amount of adsorbed Cu (II) increased linearly with time at the beginning of adsorption. A larger amount of Cu (II) ions were removed in the first 10. min of contact time and the equilibrium was established in 30-60 min at the end of a rapid adsorption for all temperatures studied. After an equilibrium time of 120 min, no more Cu (II) was adsorption. The optimum adsorption temperature for Cu (II) was determined to be 60 °C. It was shown that the removal of copper (II) ions increased with increasing temperature up to 60 °C. The adsorption of Cu (II) was endothermic, thus extend of adsorption increased with increasing temperature. The maximum Cu (II) adsorption yields and desorption yields were determined as 60.20 %, 68.44 % and 83.56 % and 80.73 %, 95.52 % and 99.88 % at 25 $mg\ dm^{-3}$ initial copper (II) ion concentration for 20, 40 and 60 °C, respectively (Table 1).

Effect of initial metal ion concentration on Cu (II) adsorption: The effect of initial copper (II) ion concentration on the sorption capacity onto PHC was investigated at different temperatures and pH 4.0. The equilibrium uptake capacities of the PHC increased with increasing initial metal ion concentration up 500 mg/L because the initial Cu (II) concentration provides an important driving force to overcome mass transfer resistances between the adsorbent and adsorption medium. Higher sorption capacities were obtained at higher initial concentrations for copper (II) ion at all temperatures (Table 1). Increasing the metal ion

concentration generally caused a decrease in the adsorption yield and maximum copper (II) ions adsorption yield determined as 83.56% an initial concentration 25 mg/L at 60 °C. At higher concentrations, the ratio of initial number of metal ions to the available sites of adsorption became fewer and the saturation of the sorption sites was observed so adsorption yields decreased.

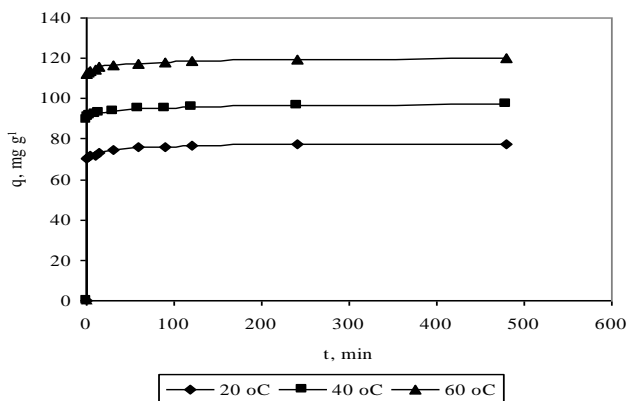


Figure 2. Copper (II) adsorption curves at given conditions.

Effect of the adsorbent dosage on the adsorption of Cu(II): The effect of adsorbent dosage on the removal of copper (II) ion at $C_0= 100 \text{ mg/L}$ was studied. While other experimental conditions were kept constant as the adsorbent concentration was varied 0.5 to 2.5 g/L. The influence of adsorbent dosage in percentage adsorption and equilibrium uptake is depicted in Figure 3. It is clear that copper (II) ion uptake increased with increasing adsorbent dosage from 0.5

to 2.5 g/L, as the percentage of copper (II) ions removal yield decreased from 60.09 to 34.16 %, as the number of binding sites would be increased, but the adsorption of copper (II) ion per unit weight of adsorbent decreased from 120.18 to 68.32 mg/g of adsorbent. This is because of the availability of more and more binding sites for complexation of copper (II) ions. Adsorption sites remain unsaturated during the adsorption reaction. This is due to the fact that as the dosage of adsorbent is increased, there is less commensurate increase in adsorption resulting from the lower adsorptive capacity utilization of the adsorbent. The decrease in adsorption capacity can be explained with the reduction in the effective surface area.

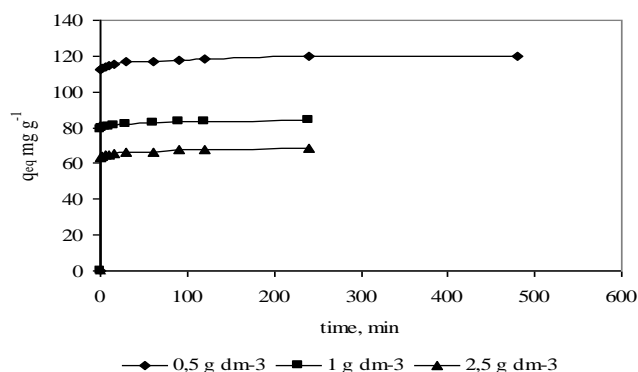


Figure 3. Influence of adsorbent dosage in adsorption yield and equilibrium uptake ($C_0= 100 \text{ mg L}^{-1}$, $\text{pH}= 4.0$, $T= 60 \text{ }^\circ\text{C}$, $X: 0.5 \text{ g L}^{-1}$, agitation rate= 150 rpm).

Table 1. The equilibrium uptake capacities adsorption yields and desorption yields obtained at different initial concentrations and temperatures.

C_0 mg dm^{-3}	20°C			40°C			60°C		
	$q_{eq}, \text{mg g}^{-1}$	% Ad.	% Des.	$q_{eq}, \text{mg g}^{-1}$	% Ad.	% Des.	$q_{eq}, \text{mg g}^{-1}$	% Ad.	% Des.
25	30.10	60.20	80.73	34.22	68.44	95.52	41.78	83.56	99.88
50	42.92	42.92	79.68	48.38	48.38	95.05	76.24	76.24	99.45
75	58.60	39.07	76.96	75.66	50.44	94.52	99.54	66.36	99.28
100	77.44	38.72	75.43	97.18	48.59	93.89	120.18	60.09	99.10
200	99.58	24.89	75.37	110.56	27.64	93.21	175.62	43.91	98.55
300	137.12	22.85	73.23	149.18	24.86	92.53	242.18	40.36	98.15
500	168.16	16.82	72.79	184.38	18.44	92.14	381.16	38.12	95.02

Determination of equilibrium parameters: The equilibrium adsorptions isotherms are very important for the design of adsorption systems since they represent how the metal ions are partitioned between the adsorbent and liquid phases at equilibrium as a function of metal ion concentration. Various isotherm equations were well known and two different isotherms were selected in this study, which are the Langmuir and Freundlich isotherms. The linearized Langmuir and Freundlich adsorption isotherms of copper (II) ions obtained at the temperatures 20, 40 and 60 °C. The Langmuir and Freundlich adsorption constants evaluated from the isotherms and correlation coefficient are given in Table 2. As observed from the Table 2, the isotherms appeared to follow Freundlich

model more closely than the Langmuir model at all the temperatures studied. The Langmuir equation is based on a monolayer adsorption by the adsorbent with the same energy of active sites. The surface of this material was expected to have nearly homogenous sites for adsorption, so a much better fit was obtained. The experimental data indicate that the amount of Cu (II) sorbed increased from 117.99 to 212.88 mg/g with increase in temperature from 20 °C to 60°C. The other Langmuir constant, K indicates the affinity for the binding of Cu (II). The higher value of K found at 60°C showed strong bonding of Cu (II) to the PHC at this temperature. The Freundlich isotherm is an empirical equation employed to describe heterogeneous system. The Freundlich isotherm model exhibited a good

fit to the experimental sorption data since the r^2 values were 0.99, 0.98 and 0.99 at 20, 40 and 60°C. The Magnitude of K_F and n of the Freundlich isotherm constants showed the tendency of Cu (II) uptake from the adsorption medium with high capacity of PHC especially at 60°C. The highest K_F value was determined as 21.49 at this temperature. All n values were found high enough for adsorption.

Table 2. Isotherms constants for Cu (II) ion adsorbed on PHC.

T (°C)	Langmuir Model			Freundlich Model		
	q_{max}	K	R^2	K_F	n	R^2
20	117.99	0.032	0.90	9.67	2.09	0.99
40	133.19	0.040	0.86	14.49	2.33	0.98
60	212.88	0.069	0.86	21.49	2.40	0.99

Kinetic parameters of adsorption: Various kinetic models namely the Lagergren's pseudo-first order, pseudo-second order and intraparticle diffusion models have been used for the validity with the experimental at

adsorption process for Cu (II) onto PHC. With the average shaking speed of 150 rpm, it was assumed to offer no mass transfer resistance to the overall adsorption process. The values of various kinetic parameters are tabulated in Table 3. The results showed that, the correlation coefficient for the pseudo-first order kinetic model obtained 20-60°C was very low and they increased with increasing temperature. The theoretical $q_{eq,cal}$ values found from this model did not give reasonable values especially at low temperature so pseudo-first order model could not describe the adsorption results of Cu (II) onto PHC.

The values of second order adsorption rate constant, k_2 , were calculated. Theoretical and experimental q_{eq} and correlation coefficients are also given Table 3. In the view of these results, it can be said that the pseudo-second order kinetic model provided a good correlation for the adsorption of Cu (II) onto PHC in contrast to the pseudo-first order model.

Table 3. Change of the pseudo- first and second order reaction rate constants with temperature.

T, °C	$q_{eq,exp}$ (mg g ⁻¹)	First order kinetic model			Second order kinetic model		
		k_1 (dm ⁻³ min ⁻¹)	$q_{eq,cal}$ (mg g ⁻¹)	R^2	k_2 (g mg ⁻¹ min ⁻¹)	$q_{eq,cal}$ (mg g ⁻¹)	R^2
20	77.44	0.023	9.017	0.83	0.019	77.52	0.99
40	97.18	0.015	9.090	0.61	0.015	97.20	0.99
60	120.18	0.014	9.175	0.59	0.012	120.18	0.99

Determination of thermodynamic parameters:

Thermodynamic parameters such as free energy change (ΔG°), enthalpy change (ΔH°), and entropy change (ΔS°) can be estimated by using equilibrium constants changing with temperature. The value of ΔG° for the adsorption of Cu (II) onto PHC at different temperature (20, 40 and 60°C) is given in Table 4. The magnitude of ΔG° increased with the rise in temperature. Gibbs free energy values for the adsorption process were obtained as -18.55, -20.49 and -23.21 kJmol⁻¹ for the temperatures 20, 30 and 60 °C, respectively. The K values increased with increasing temperature. The negative value of ΔG° confirms the feasibility of the process and the spontaneous nature of adsorption of Cu (II) onto PHC. ΔH° for the adsorption of Cu (II) onto PHC was found to be 15.94 k J mol⁻¹ while ΔS° was 117.59 k J mol⁻¹K⁻¹. The positive value of ΔH° suggested the endothermic nature of adsorption, while positive values of ΔS° reflect the affinity of Cu (II) for sorbent used. In addition, positive value of ΔS° shows the increasing randomness at the solid/liquid interface during the sorption of Cu (II) on selected sorbent.

Table 4. The thermodynamic constants of adsorption obtained PHC.

T, °C	K (dm ⁻³ mg ⁻¹)	$-\Delta G^\circ$ (kJ mol ⁻¹)	ΔH° (kJ mol ⁻¹)	ΔS° (J K ⁻¹ mol ⁻¹)
20	7.618	18.55		117.72
40	7.839	20.49	15.49	116.05
60	8.385	23.21		117.59

CONCLUSION

PHC is an effective adsorbent for the removal of Cu (II) from aqueous solution. The results indicated that adsorption capacity of the adsorbent was considerably affected by initial pH, temperature and initial Cu (II) concentration. The optimum pH value was determined to be 4.0. It was found that Cu (II) adsorption increased with temperature up to 60°C and initial Cu (II) ion concentration up to 500 mg/L. The Langmuir and Freundlich adsorption equations were used to expiries adsorption phenomenon of the Cu (II). The Freundlich isotherm model at those optimum conditions best defined the equilibrium data. The PHC can be used as an effective low-cost agricultural waste adsorbent for the removal of Cu (II) with its adsorption capacity of 120.18 mg/g at 60°C. The kinetics of Cu (II) adsorption onto PHC was examined using the pseudo-first and pseudo-second order kinetic models. The results indicated that the pseudo-second order equation provided the best correlation of the sorption data. The thermodynamic constants of adsorption were also evaluated. The negative value of ΔG° confirms the spontaneous nature adsorption process. The positive value of ΔS° showed the increased randomness at the solid-solution interface during adsorption and the positive value of ΔH° indicated the adsorption process was endothermic. It can be concluded that the PHC would be useful for the

economic treatment of wastewater containing Cu (II) to use on agricultural by-product such as peanut hull as an adsorbent.

REFERENCES

- Argun, M.E. & Dursun, S. (2008).** A new approach to modification of natural adsorbent for heavy metal adsorption. *Bioresearch Technology*, **99**, 2516-2527.
- Bansode, R.R., Losso, J.N., Marshall, W.E., Rao, R.M. & Portier, R.J. (2004).** Pecan shell-based granular activated carbon for treatment of chemical oxygen demand (COD) in municipal wastewater. *Bioresource Technology*, **94**, 129-135.
- Bayat, B. (2002).** Comparative study of adsorption properties of Turkish fly ashes. I. The case of nickel(II), copper(II) and zinc(II). *Journal of Hazardous Materials*, **95(3)**, 251-273.
- Cetin, S. & Pehlivan, E. (2007).** The use of fly ash as a low cost, environmentally friendly alternative to activated carbon for the removal of heavy metals from aqueous solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. **298(1-2)**, 83-87.
- Demirbaş, E., Dizge, N. & Kobya, M. (2009).** Adsorption kinetics and equilibrium of copper from aqueous solutions using hazelnut shell activated carbon. *Chemical Eng. J.*, **148**, 480-487.
- Dursun, A.Y. (2006).** A comparative study on determination of the equilibrium, kinetic and Thermodynamic parameters of adsorption of copper (II) and lead (II) ions onto pretreated *Aspergillus niger*. *Biochem. Eng. J.*, **28**, 187-195.
- Dursun, G., Çiçek, H. & Dursun, A.Y. (2005).** Adsorption of phenol from aqueous solution by using carbonised beet pulp. *Journal of Hazardous Materials*, **125(1-3, 17)**, 175- 182.
- Freundlich, H.M.F. (1906).** Über die adsorption in lasungen. *J. Phys. Chem.*, **57**, 385-470.
- Giwa, O.S. & Bello, I.A. (2007).** Removal of heavy metal from industrial wastewater using modified activated coconut shell carbon. *Biochem. Engin. J.*, **36(2)**, 174-181.
- Gong, R., Li, M., Yang, C., Sun, Y. & Chen, J. (2005).** Removal of cationic dyes from aqueous solution by adsorption on peanut hull. *Journal of Hazardous Materials*. **121(1-3)**, 247-250.
- Gong, R., Sun, Y., Chen, J., Liu, H. & Yang, C. (2005).** Effect of chemical modification on dye adsorption capacity of peanut hull. *Dyes and Pigments*. **67(3)**, 175-181.
- Ho, Y.S. & Mckay, G. (1999).** Pseudo-second order model for sorption processes, *Process Biochem.*, **34**, 451-465.
- Jiang, Y., Pang, H. & Bing, L. (2009).** Removal of copper (II) ions from aqueous solution by modified bagasse. *J of Hazardous*, **164**, 1-9.
- Kara, M., Yüzer, H., Sabah, E. & Çelik, M. (2003).** Adsorption of cobalt from aqueous solution onto seplolite. *Water Research*, **37**, 224-232.
- Lagergren, S. (1998).** Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens, handlingar. **24**, 1-39.
- Langmuir, I. (1916).** The constitution and fundamental properties of solids and liquids. *J Am Chem Soc.*, **38(11)**, 2221-95.
- Özçimen, D. & Ersoy-Meriçboyu, A. (2009).** Removal of copper from aqueous solutions by adsorption onto chestnut shell and garpeseed activated carbons. *J. of Hazardous*. **168**, 1118-1125.
- Özer, D., Dursun, G. & Özer, A. (2007).** Methylene blue adsorption from aqueous solution by dehydrated peanut hull. *J. of Hazard. Mater*, **144**, 171-179.
- Periasamy, K. & Namasivayam, C. (1996).** Removal of copper (II) by adsorption onto peanut hull carbon from water and copper plating industry wastewater. *Chemosphere*, **32(4)**, 769-789.
- Sölener, M., Tunali, S., Özcan, A.S., Özcan, A. & Gedikbey, T. (2008).** Adsorption characteristics of lead (II) ions onto the clay/poly (methoxyethyl)acrylamide (PMEA) composite from aqueous solutions. *Desalination*, **223**, 308-322.
- Tewari, N., Vasudevan, P. & Guha, B.K. (2005).** Study on biosorption of Cr (VI) by *Mucor hiemalis*, *Biochemical Eng. J.* **23**, 185-192.
- Wang, H.J., Zhou, A.L., Peng, F., Yu, H. & Chen, L.F. (2007).** Adsorption characteristic of acidified carbon nanotubes for heavy metal Pb (II) in aqueous solution. *Materials Science and Engineering: A*. **466(1-2)**, 201-206.
- WHO. (2006).** Guidelines for Drinking-Water Quality: Incorporating First Addendum, 1., Recommendations, third ed., World Health Organization, Geneva.



Sinop İlinde Faaliyet Gösteren Su Ürünleri İşletmelerinin Sürdürülebilir Kalkınma Açısından Değerlendirilmesi^[*]

Zafer KARSLI* Recai KOCATEPE

Sinop Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Sualtı Teknolojisi Programı, 57000 Sinop, Türkiye

Geliş/Received: 13.01.2020

Kabul/Accepted: 18.05.2020

Atıf yapmak için: Karşlı, Z. & Kocatepe, R. (2020). Sinop İlinde Faaliyet Gösteren Su Ürünleri İşletmelerinin Sürdürülebilir Kalkınma Açısından Değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 138-145.

How to cite: Karşlı, Z. & Kocatepe, R. (2020). Evaluation of Fishery Products Enterprises in Sinop Province by Sustainable Development. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 138-145.

<https://orcid.org/0000-0003-1164-5149>
 <https://orcid.org/0000-0003-1149-6921>

***Sorumlu yazarın:**

Zafer KARSLI
Sinop Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu,
Sualtı Teknolojisi Programı, 57000 Sinop,
Türkiye.
✉: zakarsli@sinop.edu.tr
Cep telefonu : +90 (537) 413 40 03

Öz: Gelecek kuşakların kendi ihtiyaçlarını karşılayabilme olanağından ödün vermeksizin bugünün ihtiyaçlarını karşılayabilecek kalkınma olarak tanımlanan sürdürülebilirlik kavramı, çalışma içeriğinde sürdürülebilir kalkınma boyutuyla incelenmiştir. Çalışmada Türkiye'nin en kuzey ucunda, Karadeniz kıyısında bulunan ve geçimini büyük oranda balıkçılıkla sağlayan, ihracatının %28,7'sini su ürünleri sektöründen gerçekleştiren Sinop İl Ticaret ve Sanayi Odasına kayıtlı su ürünleri firmaları analiz edilmiştir. Firma yetkililerinin "sürdürülebilirlik/sürdürülebilir kalkınma" kavramları bilgi düzeyleri ölçülmüştür. Firmaların çevre eğitimi, biyolojik çeşitlilik ve doğal hayatı koruma, ekosistem ve çevre koruma ve tarım/sürdürülebilir tarım konularında kullandıkları ya da kullanmayı düşündükleri çevre fonları ve çevre mevzuatı hakkındaki düşünceleri derinlemesine mülakat yapılarak incelenmiş ve veriler betimsel analiz edilmiştir. Firmaların finansman aracı olarak %55,55 oranında banka kredilerine, %44,44 oranında öz kaynaklarına yöneldikleri tespit edilmiştir. Araştırmada incelenen firmaların %60'ı ihracat teşviklerinden yeterince yararlanabildiklerini belirtirken; %40'ı yeterince yararlanamadıklarını belirtmiştir. Bunun nedeni olarak %45,5'i teşvik prosedürlerinin ağır olmasını ve dokümantasyon süreçlerinin uzun sürmesini göstermişlerdir. Çalışma kapsamında incelenen tüm firmalar sürdürülebilirlik kavramı konusunda bilgi sahibi olup ihracat mevzuatı ve çevre mevzuatı konusunda sorun yaşamamaktadırlar. Bu durum Sinop ilinin lokomotif sektörü olan su ürünleri sektörünün gelişmişlik düzeyinin bir göstergesidir.

Anahtar kelimeler: Bankacılık, çevre fonları, Sinop, su ürünleri, sürdürülebilir kalkınma.

Evaluation of Fishery Products Enterprises in Sinop Province by Sustainable Development

Abstract: The concept of sustainability, which is defined as development that can meet today's needs without compromising the ability of future generations to meet their own needs, has been examined with the sustainable development dimension in the study content. Work at the northern tip of Turkey, at the Black Sea coast and livelihood to a large extent in providing fisheries, carrying 28,7% of the exports of fishery products from the sectors of Sinop registered aquaculture Commerce and Industry firms have been analyzed. Knowledge levels of the company officials' sustainability / sustainable development concepts were measured. Firms' environmental education, biodiversity and wildlife conservation, ecosystem and environmental protection and their opinions about environmental funds and environmental legislation they use or plan to use in agriculture / sustainable agriculture were analyzed through in-depth interviews and data were analyzed descriptively.

It was determined that firms turned to 55,55% bank loans and 44,44% equities as financing instruments. While 60% of the companies examined in the research stated that they can benefit from export incentives adequately; 40% stated that they could not benefit enough. The reason for this is that 45,5% showed that the incentive procedures are heavy and the documentation processes are long. All the companies examined within the scope of the study are aware of the concept of sustainability and do not have problems with export legislation and environmental legislation. This situation is an indicator of the development level of the seafood sector, which is the locomotive sector of Sinop province.

Keywords: Aquaculture, banking, environmental funds, Sinop, sustainable development.

***Corresponding author's:**

Zafer KARSLI
Sinop University, Vocational School,
Underwater Technology Program, 57000
Sinop, Türkiye.
✉: zakarsli@sinop.edu.tr
Mobile telephone : +90 (537) 413 40 03

GİRİŞ

İçinde bulunduğumuz yüzyılın önem verdiği başlıca kavramlardan biri olan sürdürülebilirlik, tüm sektörlerin ilgi ve faaliyet alanlarına girmiştir. Günümüz kaynaklarının mümkün olduğu kadar en az hasarla, kayıpsız bir şekilde gelecek nesillere aktarımın sağlanması olarak tanımlanabilecek olan sürdürülebilirlik kavramı kültürel, çevresel, gıda kaynaklarının etkin kullanımı gibi pek çok alanla birlikte ticaret, ekonomi, kalkınma gibi alanlarda da önem kazanmaktadır.

İnsanlık doğanın sınırsız kaynaklara sahip olduğunu düşünerek üretime geçmiş ve farklı teknikler geliştirmiştir. Refah ve kalkınma göstergesi olarak mal ve hizmetlerin niceliksel artışını dikkate almış, daha fazla üretimin refah artışı için yeterli olacağına inanılmıştır. Dünya nüfusunun artışı ve teknolojik gelişmeler, üretimin hızlanmasını ve kaynakların daha çok kullanılmasını beraberinde getirmiştir. Kaynakların daha çok kullanılması ise çevresel problemlerin gelişmesine neden olmuştur.

Sürdürülebilirlik çevreden turizme, ekonomiden arkeolojiye kadar tüm bilim dallarında anlam bulur ve tüm uluslar tarafından özenle takip edilir olmuştur. Sürdürülebilir kelimesi ağırlıklı olarak ekonomik bir terim gibi görünse de, sadece üretim ve tüketimde, iç ve dış ticarete, büyüme ve kalkınmada kullanılmamaktadır. Bunların yanında kültürel, siyasi, sosyal, çevresel pek çok alanda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Kuşat, 2013).

Gilman (1992) sürdürülebilirlik kavramını “toplumun, ekosistemin ya da devam eden herhangi bir sistemin ana kaynakları tüketmeden belirsiz bir geleceğe dek işlevini sürdürmesi olarak” tanımlamıştır. Ruckelshaus (1989) ise “ekolojinin en geniş sınırları içinde ekonomik büyümenin ve kalkınmanın karşılıklı etkileşim ile sağlanacağı ve zaman içinde korunacağı doktrin” olarak ifade edilmiştir. Sürdürülebilirlik kavramına yönelik tanımlamalardan bir diğeri ise “gelecek kuşakların kendi ihtiyaçlarını karşılayabilme olanağından ödün vermeksizin bugünün ihtiyaçlarını karşılayabilecek kalkınma” şeklinde yapılmıştır (Brundtland Raporu, 1987). Bu tanımlama sürdürülebilir kalkınmanın günümüzde de en kabul gören etkili tanımlamalarından biri olarak kayıtlara geçmiştir.

Sürdürülebilir kalkınma, gelecek nesillerin ihtiyaçlarını karşılama olanaklarını ellerinden almadan, şimdiki neslin ihtiyaçlarının karşılanabildiği gelişme süreci olarak tanımlanmaktadır (World Commission on Environment and Development, 1987). Bojö ve vd. (1992), sürdürülebilir kalkınma hususunda şu sorulara yanıt aramışlardır: “1. Sürdürülebilir kalkınma gerçekten mümkün müdür?, 2. Doğal kaynakların telifisi için nasıl yatırım yapılmalıdır?, 3. Sürdürülebilir kalkınmanın gerçekleştirilmesi için nasıl teşvikler tasarlanmalıdır?, 4. Sürdürülebilir kalkınmanın finansman maliyetlerine etkileri nelerdir?”.

Sürdürülebilir kalkınma kavramı yukarıda da belirtildiği gibi pek çok disiplini kapsayan çevresel, sosyal, ekonomik boyutlara sahip bir olgudur, bu alanda oluşan değişimlerin sonucunun etkilerinin çok yönlü olması da kaçınılmazdır. Bu sonuç sürdürülebilir kalkınma kavramının tanımlanmasını ve algılanmasını zorlaştırmaktadır. Bu sorunu aşmanın temel yolu sürdürülebilir kalkınmanın yeterli sayıda ekonomik, toplumsal, çevresel değişken ile uygun yöntemler kullanılarak ölçülmesini sağlamaktır. Bu amaçla hazırlanan sürdürülebilir kalkınma göstergelerinin belirlenmesinde genellikle BM (Birleşmiş Milletler), OECD, Dünya Bankası ve AB (Avrupa Birliği) gibi çeşitli uluslararası kuruluşların geliştirdikleri çok çeşitli göstergeler kullanılmaktadır (Çemrek ve Bayraç, 2013).

Sinop İli 2016 yılı nüfusu 205.478’dir. İlde Merkez ve Boyabat İlçesinde olmak üzere iki adet Organize Sanayi Bölgesi bulunmaktadır. İl bazında Sanayi sicil belgesine sahip 441 firma vardır. Bu firmaların 110’u gıda sektöründe faaliyet göstermekte olup sektörde 814 kişiye istihdam sağlanmaktadır. 2016 yılında Sinop İli ihracat oranları 2013 yılına kıyasla geride kalmış ancak dış ticaretteki partner ülke sayısı artarak 59 farklı ülkeye ihracat, 22 ülkeden ise ithalat gerçekleşmiştir. Sektörel dış ticaret verilerinde ise Sinop İlinin su ürünleri sektöründe düzenli olarak yoğun ihracat gerçekleştirdiği görülmektedir. 2016 yılında 7.314,679 dolar “balık, kabuklu hayvan, yumuşakça ve suda yaşayan diğer omurgasız hayvan” ihracatı gerçekleşmiştir (KUZKA 2016a). Çalışma grubunun belirlenmesi için; Sinop İli Tarımsal Yatırım Rehberi (Tarım, 2016) incelenmiş il bazında büyük ölçekli yatırımların yapılmadığı görülmüştür. İl bazında hububat ve bakliyat üretimi yapan tesis sayısı 10, süt ve süt ürünleri üretimi yapan tesis sayısı üç, yem fabrikası iki, su ürünleri işleme tesis sayısı ise beştir. Bunların dışında kalan tesisler ise daha küçük ölçekli işletmelerdir. Türkiye İhracatçılar Meclisi tarafından verilen 2012 yılına ait Sinop İli Ürün Gruplarına Göre İhracat Dağılımı incelendiğinde il bazında en çok ihracatı yapılan ürünlerin Su Ürünleri ve Hayvancılık mamulleri olduğu görülmüştür (KUZKA, 2016b).

Bu çalışma; öncelikli olarak geçimini büyük oranda balıkçılıkla sağlayan, ihracatının ise %28,7’sini su ürünleri sektöründen gerçekleştiren Sinop İl Ticaret ve Sanayi Odasına kayıtlı su ürünleri firmalarının sürdürülebilirlik kavramına ilişkin farkındalıklarının belirlenmesini amaçlamaktadır. Bununla birlikte; bu harcamalarda finansman olarak hangi kaynakları kullandıkları?, sürdürülebilir kalkınma kavramından haberdar olup olmadıkları?, bu kavrama yönelik yatırımları finanse eden finans kaynaklarından haberdar olup olmadıkları?, haberdar iseler bu finans kaynaklarını ne ölçüde kullandıkları?” nı belirlemeyi amaçlamaktadır. Bunun yanı sıra, sürdürülebilir kalkınma kavramını destekleyen ulusal ya da uluslararası

kuruluşların (Birleşmiş Milletler, Avrupa Yatırım Bankası, Avrupa Kalkınma Bankası, Dünya Bankası, Avrupa Birliği, Yerel Yönetimler, Kalkınma Bakanlığı vb.) çevre eğitimi, biyolojik çeşitlilik ve doğal hayatı koruma, sürdürülebilirlik, sürdürülebilir kalkınma, ekosistem ve çevre koruma vb. konularda verdikleri ya da verme isteğinde oldukları fonlara olan farkındalıkların belirlenmesi, fonlara ulaşmada yaşadıkları varsa zorlukların belirlenmesi, söz konusu fonlardan yararlanmış iseler bu fonları hangi alanlarda kullandıkları (bilinçlendirme kampanyaları, tesisleri mevzuata uygun hale getirme, eksiklikleri tamamlama, eğitim çalışmaları, yayınlar, toplantı ve konferanslar vb.); ayrıca çevre fonları ve çevre mevzuatı konusunda firma yöneticilerinin bilgi düzeylerinin ölçülmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Çalışma grubu: Araştırmada Sinop ilinde Ticaret ve Sanayi Odasına kayıtlı su ürünleri sektöründe faaliyet gösteren ve ihracat yapan işletmeler tercih edilmiştir. Sinop Ticaret ve Sanayi Odası kayıtları incelenmiş ve konu ile ilgili ihracat yaptığı belirlenen 5 firma; A, B, C, D ve E grupları şeklinde adlandırılmıştır.

Tablo 1. Çalışma grubunun özellikleri.

Table 1. Characteristics of the working group.

	A	B	C	D	E
İşletmenin faaliyet süresi	11-20 yıl	11-20 yıl	11-20 yıl	>20	>20
İşletmenin hukuki yapısı	Limited Şirket	Limited Şirket	Limited Şirket	Anonim Şirket	Anonim Şirket
Faaliyet alanı	Su Ürünleri	Su Ürünleri	Su Ürünleri	Balık Unu ve Yağı	Balık Unu ve Yağı
İhracat Tecrübesi	Var	Var	Var	Var	Var
İhracat yapılan ülkeler	Uzak Doğu, Kore, Japonya, Çin, AB Ülkeleri	Japonya, Kore, Çin, Uzakdoğu Ülkeleri	İsrail, ABD, Norveç, Danimarka, Peru, KKTC, Kanada, İspanya FAS	Avrupa Ülkeleri	Gürcistan
Kadın çalışan sayısı	30	40	2	1	5
Erkek çalışan sayısı	10	10	59	27	45

Tablo 2. Araştırma soruları.

Table 2. Research questions.

1.	Firmalar finansman ihtiyaçlarını nasıl sağlar?
2.	Firmaların ihracat teşvikinden yararlanma oranları ve ihracat mevzuatı hakkındaki görüşleri nelerdir? <ol style="list-style-type: none"> Firmalar ihracat teşvikinden yeterli düzeyde yararlanmakta mıdır? Firmaların ihracat mevzuatı hakkındaki görüşleri ve yaşanan sıkıntılar nelerdir?
3.	Firmalar çevre kredisi, çevre fonları hakkında bilgi sahibi mi? ve bu fonları kullanıyorlar mı? Çevre mevzuatı hakkında görüşleri nelerdir? <ol style="list-style-type: none"> Firmaların çevre fonları hakkındaki düşünceleri ve faydalanma oranları nedir? Çevre mevzuatı hakkındaki görüşleri nelerdir?
4.	Firmanın sürdürülebilirlik ve sürdürülebilir kalkınma konusundaki bilgi düzeyi nasıldır? Sürdürülebilirliğe firmanın verdiği destekler nelerdir?
5.	Firma doğal hayatı koruma, çevre ve halk sağlığı, çevre eğitimlerine yeterli desteği veriyor mu?

Verilerin toplanması: Verileri, mülakat yapılan firma yetkililerinin kendilerini rahat ifade edebileceği ve yüz yüze görüşmenin etkin yapılabileceği bir ortamda, randevu verdikleri zaman diliminde yapılmıştır. Görüşme soruları her bir firma yetkilisine aynı tonlama ve diksiyon ile sorulmuştur.

Görüşmelerin çözümlenmesi sonrasında 14 sayfa veri elde edilmiştir. Öncelikli olarak yazıya dökülen veriler

Çalışma grubu içerisinde yer alan firmaların ticari yapısı, çalışan sayısı ve kapasite vb. bilgileri Tablo 1.'de verilmiştir.

Veri toplama aracı: Araştırmada veri toplama amacıyla öncelikli olarak kaynak taraması yapılmış, bununla birlikte araştırma sorularından (Tablo 2) yola çıkarak derinlemesine mülakat soruları hazırlanarak yüz yüze görüşme tekniği uygulanmıştır. Mülakat soruları Sinop İli Ticaret ve Sanayi Odasına kayıtlı ve ihracat yapan su ürünleri fabrikalarına uygun olarak geliştirilmiştir. Geliştirilen görüşme sorularının hazırlanmasında, soruların kolayca anlaşılabilir olması, çok boyutlu ve kafa karıştırıcı olmaması, mülakat yapılan kişiyi yönlendirici olmaması gibi hususlara dikkat edilmiştir (Yılmaz ve Altınkurt, 2011). Hazırlanan görüşme formunun uygunluğu hususunda alanında uzman akademisyenlerden görüş alınmıştır. Uzman önerileri dikkate alınarak form revize edilmiştir. Araştırmada yüz yüze görüşme amacıyla firma yetkilileri ile görüşülmüş ve ayrıntılı bilgiler alınmaya çalışılmıştır. Mülakat öncesi, çalışmanın amacı ve önemi firma yetkililerini anlatılmış gerçekçi cevaplar verilmesi talep edilmiştir.

iki kez üstünden geçilerek düzenlenmiş ve doğruluğu kontrol edilmiş, eksiklikler giderilmiştir.

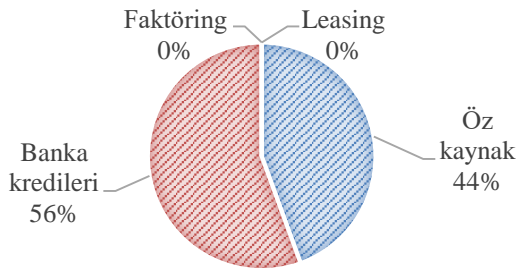
Verilerin analizi: Araştırma verilerinin çözümlenmesinde betimsel analiz ve içerik analizi teknikleri kullanılmıştır. Elde edilen verilerin, önceden tespit edilen temalara göre özetlenip yorumlanması, daha etkili olması amacıyla doğrudan alıntılarının sıklıkla kullanıldığı ve yorumlamanın neden-sonuç ilişkisine göre yapıldığı analizlere betimsel analiz denilmektedir

(Yıldırım ve Şimşek, 2003). Bu analiz, verilerin azaltılması, verilerin sunumu, sonuç çıkarma ve doğrulama çerçevesinde gerçekleştirilmiştir (Yıldırım ve Şimşek, 2003). Formlardan elde edilen veriler Windows Word 2010 Office programına aktarılmış, çok kez okunmuş ve kodlamalar yapılmıştır. Kodlar birleştirilerek kategorize edilmiş ve betimsel içerik analizi yapılmıştır.

BULGULAR

Araştırma sorularından yola çıkılarak hazırlanan mülakat soruları analiz edildikten sonra elde edilen bulgular aşağıdaki başlıklar altında gruplandırılmıştır.

Firmalar finansman ihtiyaçlarını nasıl sağladıklarının incelenmesi: İlk araştırma sorusuna yanıt bulmak amacıyla firmalara “Genel olarak finansman ihtiyacını nasıl sağlarsınız?”, teşvik-fonlar farkındalık düzeyleri hakkındaki ve daha önce teşvik kullanıp kullanılmadığı dair bilgilere erişmek için firmalara; “Teşvik, fon programlarına ilişkin bilgi sağlamak amacıyla hangi kurumlara başvuruyorsunuz? Eğer daha önce başvuru yaptıysanız bunlar nelerdir? Daha önce firmanız kalkınma fonlarından faydalandı mı?” gibi soruları sorulmuş ve cevapları aranmıştır. Firmaların finansman ihtiyaçlarından kullandıkları araçlar, yüzdeleri Şekil 1’de verilmiştir.

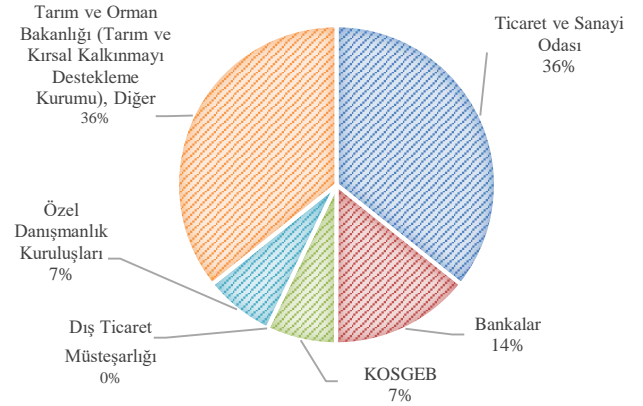


Şekil 1. Firmaların finansman araçları yüzde dağılımı.

Figure 1. Firm's financing instruments percentage distribution.

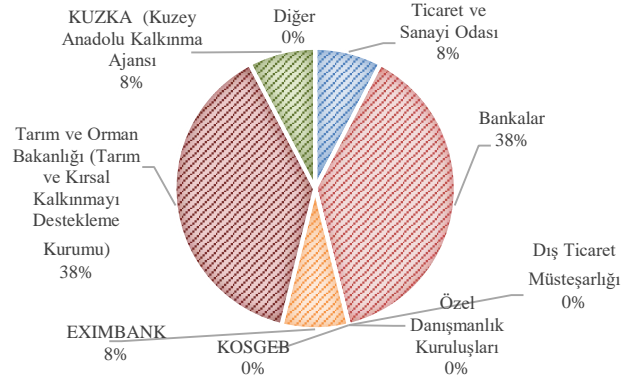
Firmaların teşvik, fon gibi programlara ilişkin bilgi almak amacıyla başvurdukları kurumların ve daha önce kullandıkları teşvik fon ve yatırım desteklerinin yüzde ve frekans tabloları sırasıyla Şekil 2 ve 3’de verilmiştir.

Firma yetkililerinin hepsi finansman ihtiyacını yoğun olarak öz kaynaklarından ve banka kredilerinden karşıladıklarını belirtmişlerdir. C firma yetkilisi “özellikle fabrikanın kuruluş aşamasında kredi ihtiyacı duyduklarını” belirtmiştir. Yine aynı firma “makine desteği için Tarım Bakanlığı’ndan 2015 yılı içerisinde 250 bin TL teşvik kullanıldı.” şeklinde beyan vermiştir.



Şekil 2. Firmaların teşvik, fon vb. programlara ilişkin bilgi aldıkları kaynaklar.

Figure 2. Firms incentives, funds, etc. the sources from which they receive information about the programs.



Şekil 3. Firmaların kullandıkları fon-teşvik kaynakları hakkında bilgiler.

Figure 3. Information about fund-incentive sources used by firms.

“Eximbank’tan kredi kullandık, Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı’ndan %50 makine hibe desteği ile soğuk hava deposu yapıldı. Yine paketleme üzerinde KUZKA’dan bir proje sonuçlandırdık, iki projemizi de KUZKA’ya sunduk ve onay bekliyoruz.” şeklinde ise B firma yetkilisi açıklama yapmıştır.

A firması ise “Çoğunluklu olarak Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ile Kırsal Kalkınma Ajansı tarafından verilen proje desteklerini takip ediyoruz. 2011 yılından Kırsal Kalkınma vasıtasıyla şoklama kapasitesi artırımı yapıldı. 500 bin TL destek sağlandı.” şeklinde belirtmiştir.

Firmaların ihracat teşvikinden yararlanma oranları ve ihracat mevzuatı hakkındaki görüşlerinin incelenmesi: Bu araştırma sorusu kapsamında firmalara ihracat teşviklerinden yeterince yararlanıp yararlanmadıkları konusunda ne düşündükleri, ihracat teşviklerinden yeterince yararlanmadıklarını düşünüyorlar ise yararlanmama sebeplerini sıralamaları istendi ve verilen cevaplar aşağıda Tablo 3 ve 4’de frekans ve yüzde tablosu olarak verilmiştir.

Tablo 3. Firmaların ihracat teşviklerinden yeterince yararlanıp yararlanmadıkları hakkındaki bilgiler.

Table 3. Information on whether firms have sufficiently benefited from export incentives.

	f	%
Yeterince yararlanıyoruz	3	60
Yeterince yararlanmıyoruz	2	40
	5	100

Tablo 4. İhracat teşviklerinden yararlanmama sebepleri.

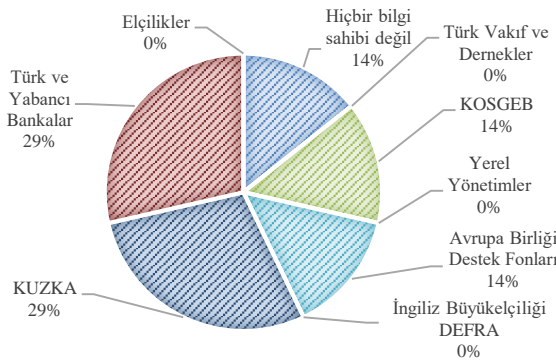
Table 4. Reasons for not benefiting from export incentives.

	f	%
Bilgi eksikliği	5	45.5
İç problemler	2	18.9
Teşvik prosedürlerinin ağır olması	2	18.9
Evrak, dosya, hazırlık vb. işlemlerin uzun sürmesi	2	18.9
	11	100

Çalışma kapsamında görüşme yapılan firmaların tümü ihracat yaparken mevzuat sıkıntısı yaşamadıklarını mevzuata uygun davrandıklarını ve kendi otokontrolleri için mevzuatın yol gösterici olduğunu belirtmişlerdir.

Firmaların çevre kredisi, çevre fonları, çevre mevzuatı hakkında bilgi düzeyleri ve görüşlerinin incelenmesi: Firmaların çevre fonları hakkındaki görüşleri, kullanıp kullanmadıkları, kullandı iseler hangilerinin tercih edildiği ve fayda görüp görmedikleri ve kullanmadılar ise ilerde kullanmayı düşünüp düşünmedikleri mülakat esnasında soruldu. İhracat yapan beş firmanın da daha önce çevre fonu kullanmadıkları ancak çevre dostu yatırımlar yaptıkları tespit edildi.

Firmaların çevre fonları sağlayan kuruluşlar hakkında bilgi düzeylerini yansıtan frekans ve yüzde tablosu Şekil 4’de verilmiştir.



Şekil 4. Çevre fonları sağlayan kuruluşlara hakkında bilgi düzeyi.

Figure 4. Level of knowledge about institutions providing environmental funds.

A ve D firması yukarıda belirtilen çevre fonlarına ilerleyen tarihlerde başvurabileceğini belirtirken E firması ve B firması çevre fonları hakkında bilgi sahibi olduğunu buna karşın “firma olarak bu fonlara ihtiyacı olmadığını” belirtmiştir.

Çalışma kapsamında tüm firmalar hali hazırda yürürlükte olan çevre mevzuatı kapsamında hiçbir sorun yaşamadıklarını belirtmişlerdir.

Firmaların sürdürülebilirlik ve sürdürülebilir kalkınma konusundaki bilgi düzeyleri ve sürdürülebilirliğe verdikleri desteklerin incelenmesi: Firmalara sürdürülebilirlik kavramını duyup duymadıkları mülakatta soruldu, tüm firmalar bu soruya “sürdürülebilirlik kavramını duyduk” cevabını vermişlerdir. Ayrıca sürdürülebilirlik kavramını farklı şekillerde tanımlamışlardır.

A firması “İhracat yaptığımız için çok sıkı denetimlerden geçiyoruz. Dolayısıyla hammadde alımlarında özellikle balık boy uzunluklarında çok hassas davranıyoruz. Yönetmelik dışı balık boylarını kullanmıyoruz”, B firması “Hammadde sürdürülebilirliği oldukça önemli bir konu, 3-4 cm altındaki ağ açıklığı bizim için sürdürülebilirlik ölçütüdür” şeklinde cevap vermişlerdir.

C firması “9 cm’den küçük balıklar almamaya dikkat ettiklerini, %15 hata payı ile çalıştıklarını” vurgulamıştır. D firma yetkilisi sürdürülebilirlik kavramını “Yaşadığımız zaman diliminde belirli ihtiyaçlar duymaktayız. Bu ihtiyaçlarımız bugün olduğu kadar gelecekte de devam edecektir. Sürdürülebilir kalkınma olabilmesi için uluslararası kararlar alınmalıdır. Bunun nedeni günümüzde çevresel zararların gün geçtikçe artmasıdır. Bu zararların yok edilmesi gerekir ve çevresel iyileştirilmeler yapılmalıdır. Ülkelerin uyumu bence bu noktada önem taşımaktadır. Günümüzde, sularımızdaki biyolojik çeşitlilik azalmakta hatta yok olmaktadır. Çevreyi korumak için ülkeler beraber hareket etmeli, kararlarından süreklilik sağlamalıdır” şeklinde belirtmiştir. E firması da D firması ile benzer şekilde “Dünyadaki tükenir kaynakların gelecek nesillere aktarımını sağlayacak önlemleri gözeterek kalkınma planlarımız yapmamız gerekliliği”nden bahsetmiştir.

Firmaların doğal hayatı koruma, çevre ve halk sağlığı, çevre eğitimlerine verdiği desteklerin tespiti: Çalışma kapsamında firmalardan bünyelerinde çalışan personellerine çevre eğitimi verip vermediği, bu eğitimleri nasıl verdikleri, doğal hayatı koruma, sürdürülebilir tarım, çevre konularında yaptıkları harcamalar konusunda bilgi vermeleri talep edildi. Verilen cevaplara ilişkin frekans tabloları ile yüzde değerleri Tablo 5, Şekil 5 ve 6’da verilmiştir.

Firmalara “Daha önce kuruluşunuzda personele çevre eğitimi verildi mi?” şeklinde soruldu ve bu soruya B firmasında çalışan yetkili; “Çevre mühendisliği konusundan alanında uzman bir danışmanlık firmasından destek almaktayız. Atık yönetimi, ambalajların çevresel etkileri vb. konularda eğitimler aldık.” şeklinde cevaplamıştır. D firması yetkilisi ise danışmanlık

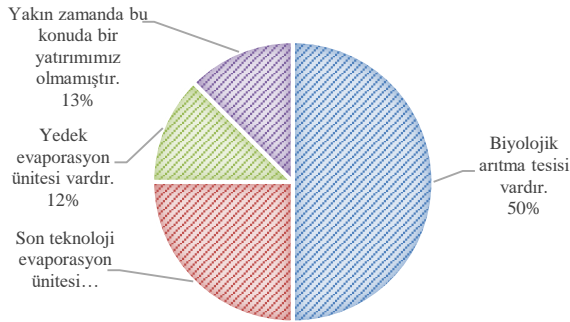
firmasından aldıkları eğitimler sonucunda “İş yerinde çalışan personelin bilinçlenmesi sağlandı. Çevre ile ilgili konularda daha detaylı ve düşünerek hareket etmeleri sağlandı” demiştir.

Tablo 5. Çevre eğitimi frekans ve yüzde tablosu.

Table 5. Environmental education frequency and percentage table.

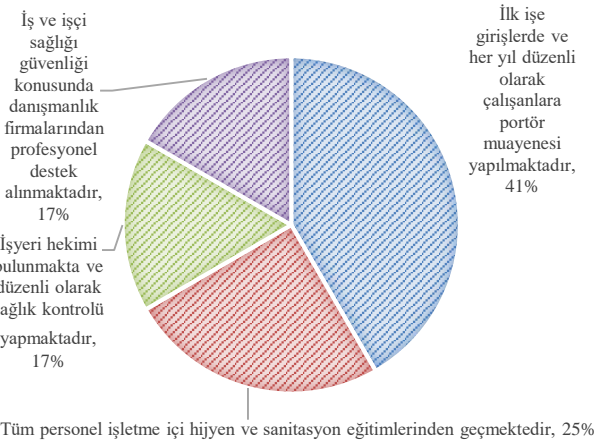
	f	%
Çevre eğitimi firma yetkilileri tarafından verilmektedir.	4	80
Çevre eğitimi anlaşmalı danışmanlık firmaları tarafından her yıl düzenli olarak verilmektedir.	1	20
Çevre eğitimi verilmemektedir.	-	-
	5	100

Firmalardan çevre ve halk sağlığı açısından yaptıkları yatırımlar hakkında bilgi vermeleri istendi. Bu kapsamda alınan cevaplara ilişkin frekans ve yüzde dağılım tablosu Tablo 5’de verilmiştir. C firması “Çevresel arıtma sistemini, evaporasyon sistemini 1,5 milyon TL bedelle kurduk. Yedek bir tane daha alındı. Atıkların içeriğindeki oksijen atılım değeri az olduğu için 300 bin TL bedel ile biyolojik arıtma tesisi kurduk.” şeklinde cevap vermiştir.



Şekil 5. Çevresel kirlenmeleri minimize etmek amacıyla yapılan yatırımlar.

Figure 5. Investments to minimize environmental pollutants.



Şekil 6. Halk sağlığı ve çalışan personel sağlığı ve güvenliği açısından yaptırımlar ve olanaklar.

Figure 6. Sanctions and opportunities in terms of public health and employee health and safety.

Hem halk hem de çalışan sağlığı açısından Şekil 6’da görüldüğü gibi tüm firmalar portör muayenesi takibini yapmaktadır. C firması yetkilisi “Şirket doktorumuz haftada 2 gün gelerek çalışanların şikâyetlerini dinlemekte ve muayene etmektedir.” demiştir. D firması ise “İşçi sağlığı açısından, iş sağlığı ve güvenliği uzmanlarımız periyodik ve planlı kontrollerini yapıp, gerekli, yapılmasını düşündükleri şeyleri bizimle paylaşıyorlar. Bizde onlarla birlikte uygulamasını gerçekleştiriyoruz.” şeklinde beyan vermiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Çalışmamıza konu olan su ürünleri sektörünün sürdürülebilirlikle ilgili farkındalık oranlarının araştırıldığı çalışmalara literatürde rastlanılmamış olup araştırma özgünlüğünü buradan kazanmaktadır. Bu nedenle veriler kendi içinde ve bazı ekonomik veriler göz önünde tutularak tartışılmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen bulgular incelendiğinde Sinop İli Ticaret ve Sanayi Odasına kayıtlı su ürünleri alanında ihracat yapan firmaların Sinop İli Dikmen İlçesi mevkiinde bulunduğu, %60’ının faaliyet süresinin 11-20 yıl arasında ve Limited şirket yapısında olduğu tespit edilmiştir. Firmalarda çalışan 229 personelin 78’i kadın 151’i erkektir. Kadın çalışanın en fazla olduğu firma A firmasıdır. Fabrikalarda çalışan erkek personel sayısının fazla olmasının nedeni fabrikaların Dikmen İlçesi merkezine uzak olması olabilir.

Firmalarda idareci, üretim sorumlusu olarak çalışan ve mülakat yapılan personellerin lisans/yüksek lisans düzeyinde eğitime sahip olması sektör açısından oldukça önemlidir.

Firmaların finansman aracı olarak %55,55 oranında banka kredilerine, %44,44 oranında öz kaynaklarına yönelindikleri tespit edilmiştir. Firmaların faaliyet sürelerinin 20 yıla yakın olması, pek çok ülkeye ihracat yapıyor olmaları; su ürünleri sektöründe önemli ve büyük bir yere sahip olduklarının bir göstergesidir.

Sinop İli merkez ve diğer ilçelerde bulunan banka şube verileri Tablo 6’da verilmiştir. Tablo 6’de görüldüğü gibi çalışmada incelenen firmaların konuşlandığı Dikmen İlçesinde hiçbir bankaya ait şube bulunmamaktadır. Dikmen Kaymakamlığı (2018) resmi sitesinde “Sadece cuma günleri ilçemizde banka şubesi açılmaktadır” bilgisi yer almaktadır. KUZKA (2016a) tarafından hazırlanan Sinop İli Sanayi ve Ekonomi Analizi kitapçığında da yer aldığı gibi “Firmaların sermayeleri açısından Sinop İli genelinin %7,5’ini oluşturan Dikmen İlçesinde herhangi bir bankanın faaliyette olmaması” oldukça dikkat çekicidir. Bu konu hassasiyetle incelenmeli ve çözüme kavuşturulmalıdır.

Firmalar öncelikli olarak Ticaret ve Sanayi Odasından ve Tarım ve Orman Bakanlığı Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu'ndan çeşitli teşvik ve fon gibi programlar konusundan bilgi almaktadır. Bunları, %14,3 ile çalıştıkları bankalar ve %7,1 ile KOSGEB ve özel danışmanlık firmaları takip etmektedir. Firmaların hiçbiri Dış Ticaret Müsteşarlığı'ndan bahsi geçen programlara ilişkin bilgi edindiklerini beyan etmemiştir. Dikmen İlçesi il merkezine 75 km, Samsun-Sinop karayoluna 9 km uzaklıktadır (Dikmen Kaymakamlığı, 2018). Bu verilerden yola çıkarak il merkezine 75 km uzaklıkta bulunan ilçede, ihracat yapan firmaların Sinop İli TSO ve Tarım ve Orman İl Müdürlüğü ile bağlantılarının oldukça kuvvetli olduğu, özellikle proje/ teşvik danışmanlığı yapan firmaların sektörden oldukça uzak kaldığı ve mutlak suretle yönlendirilmesi gerekliliği açık ve nettir.

Tablo 6. Banka şube sayıları (Sinop, 2012-2016)(KUZKA, 2016a).

Table 6. Number of bank branches (Sinop, 2012-2016) (KUZKA, 2016a).

	Ayanok	Boyabat	Dikmen	Durağan	Erfelek	Gerze	Merkez	Saraydüzü	Türkeli	Sinop
2012	4	4	0	1	1	3	9	0	3	25
2013	4	4	0	1	1	3	9	0	3	25
2014	4	4	0	1	1	3	9	1	3	26
2015	4	5	0	1	1	3	10	1	3	28
2016	4	5	0	1	1	3	10	1	3	28

Araştırmada incelenen firmaların %38,5'i Bankalar, %38,5'i Tarım ve Orman Bakanlığı Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu'ndan, %7,7'si ise TSO, Eximbank ve KUZKA'dan daha önce teşvik-fon kullandıklarını belirlenmiştir. Özellikle fabrikanın kuruluş aşamasında kredi ihtiyacı duyduklarını belirten C firması yetkilisi, Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan 2015 yılında 250 bin TL'lik makine destek kredisi kullandığını da bildirmiştir. Benzer şekilde A firması da 2011 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı'ndan 500 bin TL'lik kırsal kalkınma desteği, B firması ise Bakanlıktan %50 makine hibe desteği aldıklarını bildirmişlerdir. Firmaların Tarım ve Orman Bakanlığı kaynaklı hibe desteklerinden faydalıyor ve takip ediyor oluşu, ihracat yapan firmaların Bakanlık bağlantılarının oldukça iyi düzeyde olduğu şeklinde yorumlanabilir.

Farklı kuruluşlar tarafından sağlanan teşvik, fon, kredi vb. desteklerin kullanıcı firmalarca görünür alanlarda sergileniyor olması hem firma açısından hem de destekleyici kuruluşun görünürlüğü'nün artması açısından oldukça önemli bir faktördür. Firmaların desteklenmesi tüketici/alıcı açısından prestij unsuru olarak gösterilebilir.

Çalışma kapsamında Sinop İlinde faaliyet gösteren ve su ürünleri sektöründe ihracat yapan firmalar

incelenmiştir. Firmalar Uzak Doğu ülkeleri, AB ülkeleri, İsrail, Norveç, KKTC, Kanada, Fas, Gürcistan gibi farklı ülkelere ihracat yapmaktadır. Firma yetkililerin %60'ı ihracat teşviklerinden yeterince yararlanabildiklerini belirtirken, %40'ı yeterince yararlanamadıklarını belirtmiş ve bunun nedeni olarak; %45,5'i teşvik prosedürlerinin yoğun olmasını ve evrak, dosya, hazırlık vb. işlemlerin uzun sürmesini göstermişlerdir.

Değerlendirme verilerinden de görüldüğü gibi, firmalar Sinop ilinin Saraydüzü'nden sonraki ikinci en düşük nüfusa sahip olan Dikmen İlçesinde yer almaktadırlar (KUZKA, 2016a). Bu durum Dikmen'in ekonomik yatırımlar açısından daha az oranda desteklendiğinin de bir göstergesidir. İlimizde yüksek ihracat rakamlarına sahip olan su ürünleri sektörünün ekonomik anlamda önemli bir yer teşkil ettiği Dikmen ilçesinde ihracat teşvik duyurularının yetersizliği net bir bulgudur. Bu bulgudan yola çıkarak özellikle Sinop Ticaret ve Sanayi Odası'nın burada bulunan ihracatçı firmalara teşvikler konusunda daha yoğun birliktelik sağlaması gerekliliği göze çarpmaktadır.

Çalışma kapsamında görüşme yapılan tüm firmalar mevzuat açısından ihracatta sorun yaşamadıklarını ve ihracat kurallarına harfiyen uyduklarını, bu konuda oldukça hassas olduklarını vurgulamışlardır. Sinop İli kapsamında ihracat yapılan pek çok ülke bulunmakta olup, firmalar bu ülkelerin ihracat şartlarını takip etmekte ve uluslararası kurallara göre işlem yapmaktadır. Bu hem Sinop İli hem ülkemiz hem de su ürünleri sektörü açısından oldukça olumludur.

İhracat teşviklerinden %60 oranında yeterince yararlandığını düşünen firmaların tümü çevre fonlarını daha önce kullanmadıklarını ancak çevre dostu yatırımlar yaptıklarını belirtmiştir. Bu durum çevre fonu sağlayan kuruluşların bölgemize ve sektöre yeterince ulaşmadığının bir göstergesidir. Firmaların hepsi çevresel ve sürdürülebilir proje ya da yatırımları destekleyen Avrupa Yatırım Bankası, Avrupa Kalkınma Bankası, Dünya Bankası vb. uluslararası finans kuruluşları hakkında yeterli bilgiye sahip olmadıklarını ifade etmişlerdir. Buna karşın KUZKA ya da KOSGEB gibi daha yerel düzeydeki kuruluşlarının destekleri konusunda daha yüksek oranda bilgiye sahiptirler.

İşletmelerini sürdürülebilir kalkınma kavramını gözeterek dönüşüm sağlayan ve bu amaçla çevre fonlarını kullanan firmaların bu aksiyonlarının firmalara hem maddi hem de saygınlık açısından önemli etkileri olacağı açıkken B ve E firmalarının "*Bu fonlara ihtiyaç duymuyoruz.*" şeklinde vurgulama yapmaları dikkate değer bulunmuştur. Mülakat esnasında firmaların büyük oranda evrak, yazışma vb. prosedürlerden şikâyetçi olduğu, fonlara başvurduktan sonra bekleme süresinin uzun olması gibi durumları

vurgulamışlardır. Bu da firmaların fonlardan uzak durmalarına neden olmaktadır.

Sürdürülebilirlik kavramı konusunda tüm firma yetkilileri birçok fikir ifade etmiş ve özellikle hammadde sürdürülebilirliğine önem verdiklerini, boy yasağına uyduklarını belirtmişlerdir.

İhracat mevzuatında olduğu gibi çevre mevzuatı konusunda da firmalar hiçbir sorun yaşamadıklarını vurgulamışlardır. Mülakat yapılan firmaların %80'i kendi bünyelerinde çevre eğitimlerini düzenli olarak verdiklerini %20'i ise çevre eğitimlerini danışmanlık firmalarından aldıklarını belirtmiştir. Düzenli olarak çevre eğitimi alan firmaların mevzuat konusunda da sıkıntı yaşamaması eğitimin önemi ve yeterliliğinin de bir göstergesidir. Firmalar özellikle evaporasyon ve çevre arıtma sistemleri üzerine yatırımlar yapmakta olduğu tespit edilmiş olup, hem çevreyi hem de doğal hayatı koruma konusunda sektörün hassas davrandığı tespit edilmiştir. Ancak firmaların sadece birinde yedek evaporasyon tesisi vardır. Balık unu-yağı üreten diğer firmalarında farklı çevre fonları ile bu alanda yatırım yapmaları gerekliliği açıktır.

Firmaların tümü ilk işe girişlerde ve her yıl düzenli olarak çalışanlarına sağlık kontrolü, portör muayenesi yaptırmaktadır. Yine firmaların %25'inde personele işletme içi hijyen ve sanitasyon eğitimleri verilmektedir. %17'sinde iş yerine düzenli olarak gelen hekim vardır. %17'sinde ise iş ve işçi sağlığı, güvenliği konusunda danışmanlık firmalarından profesyonel destek alınmaktadır. Firmaların işletme içi hijyen ve sanitasyon eğitimleri, iş ve işçi sağlığı, güvenliği konusunda daha duyarlı davranmaları gerekmektedir.

Sonuç olarak, firmaların tümünün sürdürülebilirlik kavramına vakıf olmaları ve bu kavramı önemli bulmaları olumlu bir sonuç olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte firmaların tamamının sürdürülebilirlik ve sürdürülebilir kalkınma kavramlarını sadece hammaddenin bilinçli tüketimi olarak sınırlandırmaları firmaların kavramı dar bir çerçevede değerlendirdikleri sonucunu ortaya koymaktadır. Hammaddenin üretim süreçlerindeki önemi tabi olmakla birlikte sürdürülebilirlik kavramı, üretim süreçlerinin tamamında hatta üretim sonrasında dahi gözetilmesi gereken bir politika olduğu konusunda daha fazla bilinçlendirilmeleri gerekliliği tarafımızca değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

- Bojö, J., Karl-Göran, M. & Unemo, L. (1992).** Environment and development: an economic approach, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. ISBN: 978-90-4814181-4, p.209.
- Brundtland Report, (1987).** 26.07.2016, http://www.channelingreality.com/Documents/Brundtland_Searchable.pdf.
- Çemrek, F. & Bayraç, H.N. (2013).** Sürdürülebilir kalkınma skorunun hesaplanması, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi, 14(2), 131-152.
- Dikmen Kaymakamlığı, (2018).** 03.03.2018, <http://www.dikmen.gov.tr/tarih-ve-cografya>.
- Gilman, R. (1992).** Sustainability By Robert Gilman from the 1992 UIA/AIA Call for sustainable community solutions. 16 .03.2003, <http://www.context.org>.
- Kuşat, N. (2013).** Yeşil sürdürülebilirlik için yeşil ekonomi: avantaj ve dezavantajları-Türkiye incelemesi, Journal of Yaşar University. 29(8), 4896-4916.
- KUZKA (2016a).** Sinop İli sanayi ve ekonomi analizi. T.C. Kuzey Anadolu Kalkınma Ajansı. (Hazırlayan: Berkol Alevli). 56s.
- KUZKA (2016b).** 20.05.2016, https://www.kuzka.gov.tr/Icerik/Dosya/www.kuzka.gov.tr_35_IX7O48JD_418_ticaret_dis_ticaret.pdf
- Ruckelshaus, W.D. (1989).** Toward a sustainable world. Scientific American, 261(3), 166-175.
- Tarım (2016).** Yatırım Rehberi, Sinop 20.05.2016, http://www.tarim.gov.tr/SGB/TARYAT/Belgeler/il_yatirim_rehberleri/sinop.pdf.
- Yıldırım, A. & Şimşek, H. (2003).** Sosyal Bilimlerde Nitel Araştırma Yöntemleri. Ankara: Seçkin Yayınları. ISBN: 9750226038, s. 446.
- Yılmaz, K. & Altınkurt, Y. (2011).** Göreve Yeni Başlayan Özel Dershane Öğretmenlerinin Kurumlarındaki Çalışma Koşullarına İlişkin Görüşleri. Kuram ve Uygulamada Eğitim Bilimleri, 11(2), 635-650.



Temporal and Spatial Analysis of Flooding and Landslide Disasters in Turkey for Period 1960-2018 [*]

Güziye Miray PERİHANOĞLU^{1*} Himmet KARAMAN²

¹ Van Yüzcüncü Yıl University, Van Security Vocational School, Emergency and Disaster Management Program, Van, Turkey

² Istanbul Technical University, Faculty of Civil Engineering, Department of Geomatics, 34467, Istanbul, Turkey

Geliş/Received: 31.01.2020

Kabul/Accepted: 27.04.2020

How to cite: Perihanoglu, G.M. & Karaman, H. (2020). Temporal and Spatial Analysis of Flooding and Landslide Disasters in Turkey for Period 1960-2018. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 146-153.

Atf yapmak için: Perihanoglu, G.M. & Karaman, H.. (2020). Türkiye'deki Sel ve Heyelan Afetlerinin 1960-2018 Yılları Arasındaki Zamansal ve Mekansal Analizi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 146-153.

*id: <https://orcid.org/0000-0002-2730-590X>
id: <https://orcid.org/0000-0003-4923-3561>

***Corresponding author's:**

Güziye Miray PERİHANOĞLU
Van Yüzcüncü Yıl University, Van Security
Vocational School, Emergency and Disaster
Management Program, Van, Turkey
gm.perihanoglu@yyu.edu.tr
✉: gm.perihanoglu@yyu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (505) 937 80 89
Telephone : +90 444 50 65/28307

Abstract: Turkey, a country affected by natural disasters is natural disasters such as flooding and landslides are seen frequently. Floods and landslides are one of the common natural disasters in Turkey. The use of GIS-based spatial statistical analysis in disaster studies has increased in recent years. From this point, it is essential to examine the spatial distribution of disasters to prevent and mitigate disasters. In this study, flood and landslides disasters that occurred between 1960 and 2018 in Turkey is aimed to determine the spatial analysis using spatial autocorrelation methods. The problem of how these two disaster types distribute is the most pressing thing in disaster risk assessment. Data set was taken from the Disaster Knowledge Base system (TABB) of the Republic Of Turkey Ministry Of Interior Disaster And Emergency Management Presidency. Various indices related to spatial autocorrelation were classified and also they were explained mathematically. Spatial autocorrelation indices such as Moran's I, Getis Ord G, and Geary C were used to determine whether there were clustering in the data set. The rates of flood and landslide in the provinces showing clustering and their distribution are examined and also Flood and landslide distributions in clustered provinces were examined, tested with indices and compared and the results are presented in detail.

Keywords: GIS, natural disasters, spatial analysis, spatial autocorrelation, temporal analysis.

Türkiye'deki Sel ve Heyelan Afetlerinin 1960-2018 Yılları Arasındaki Zamansal ve Mekansal Analizi

Öz: Türkiye, doğal afetlerden etkilenen bir ülke olup, sel ve heyelan gibi doğal afetler sık görülmektedir. Sel ve heyelanlar Türkiye'deki yaygın görülen doğal afetlerdendir. Afet çalışmalarında, Coğrafi Bilgi Sistemi(CBS) temelli mekansal istatistik analizinin kullanımı son yıllarda artmıştır. Bu nedenle, afetlerin önlenmesi ve hafifletilmesi için afetlerin mekansal dağılımının incelenmesi önemlidir. Bu çalışmada, Türkiye'de 1960-2018 yılları arasında meydana gelen sel ve heyelan felaketlerinin mekansal otokorelasyon yöntemleri ile mekansal analizi belirlemesi amaçlanmıştır. Afet risk değerlendirmesinde en önemli noktalardan biri bu iki afet türünün nasıl dağılım gösterdiği. Çalışmada kullanılan veriler T.C. İçişleri Bakanlığı Afet ve Acil Durum Yönetimi Başkanlığı'nın Türkiye Afet Bilgi Bankası (TABB) sisteminden alınmıştır. Mekansal otokorelasyon ile ilgili çeşitli indeksler sınıflandırılmış olup matematiksel olarak açıklanmıştır. Veri kümesinde kümeleme olup olmadığını belirlemek için Moran I, Getis Ord G ve Geary C gibi mekansal otokorelasyon indisleri kullanılmıştır. Kümelene gösteren illerde taşkın ve heyelan dağılımları incelenmiş, indisler ile test edilmiş ve karşılaştırılmış olup sonuçlar ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur.

Anahtar kelimeler: CBS, doğal afetler, mekansal analiz, mekansal otokorelasyon, zamansal analiz.

[*], This article was presented at ISAG 2019 symposium.

Bu makale ISAG 2019 sempozyumunda sunulmuştur.

INTRODUCTION

Disaster is defined as an event that “causing unexpected loss of life and property, injuries and negative environmental consequences, affecting the society economically and socially, cannot be overcome with local resources, need national or international help, often occur due to natural causes, but can also occur due to human causes.” According to the center for research on the epidemiology of disasters (CRED) statistics; at least 17% of all deaths caused by natural disasters in the world occur as a result of landslides. Landslide events and their results are often included in losses caused by the main triggering factor such as earthquake and excessive rainfall. In this respect, their direct effects could not be revealed realistically and they were included in the reports very soon because they were referred to as secondary events (CRED, 2019; Fidan & Gorum, 2019). Turkey, the majority of the territory is located in Asia, is a country of 780 thousand square kilometers in the bridge position between Europe and Asia. Turkey, because of geological, meteorological and topographical structure is located in a geographical nature often exposed to disasters. Turkey struggles with a variety of disasters such as landslides, floods, earthquakes, rock falls, and avalanches. Disaster types that have the most damaging effects occur in our country as earthquakes, landslides, and floods. Landslides and flooding disasters because of the negative impact it creates in both Turkey and in the nature of the world holds an extremely important place. Landslide incidents are frequently experienced due to wrong land use and geological, climatic, geographic features and are often repeated and turned into disasters (AFAD, 2015; Gokce et al., 2008). It is important to understand the geographical distribution and pattern of natural disasters. Examining the spatial and temporal distributions of landslides offers the opportunity to recognize areas that may be sensitive to landslides in the future. GIS is a very useful technology to show the distribution and pattern of natural disasters. GIS is a powerful tool for the management, analysis, visualization, interpretation and presentation of spatial data (Qiu et al., 2019; Wang et al., 2020). GIS in spatial data analysis provides stronger results when integrated with statistical methods, therefore this integration is demanded in many studies. This study emphasizes the distribution of spatial patterns of natural disasters such as flooding and landslides in Turkey. In the study, for the 1960-2018 period of flooding and landslides in Turkey geographical patterns are analyzed by statistical regions at different levels. According to the Nomenclature of Territorial Units for Statistics (NUTS), Turkey is divided into 12 regions TSI, (2006) (Figure 1).

The data used in the study were obtained from TABB application of the Republic Of Turkey Ministry Of

Interior Disaster And Emergency Management Presidency. These data were used to determine the geographical and temporal distribution of landslides and floods in the country. Mapping and spatial autocorrelation tests were performed using ArcGIS (ESRI) and GeoDa (Spatial Analysis Laboratory, Urbana).

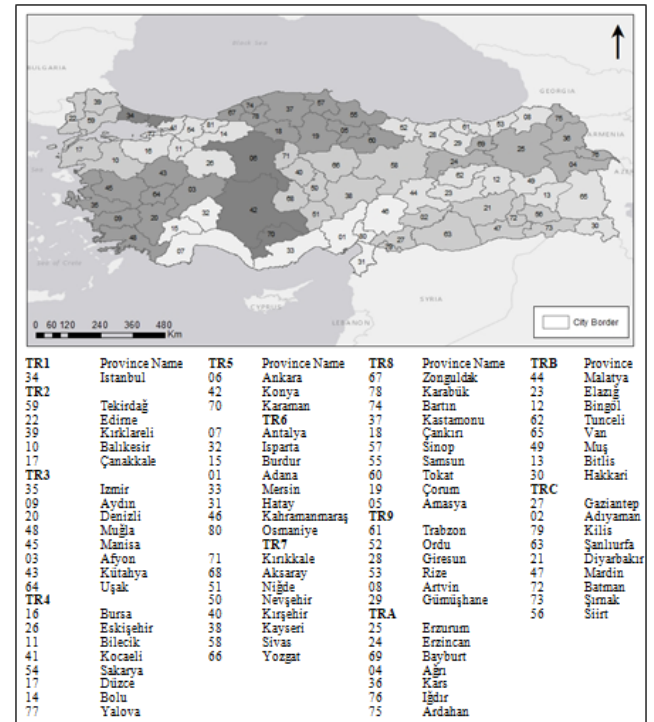


Figure 1. Turkey's statistical regions. The figure was created in ArcGIS using the source of TSI.

MATERIAL AND METHOD

In this study, data from 81 provincial-level data belonging to landslides and floods that took place in Turkey are used to indicate the spatial distribution. ArcMap software is used to run the analyses and visualize the result maps. The analyses that were run in this study are also described in detail. Classical statistics assume that observations are chosen independently and are spatially independent. Spatial statistics were laid by Tobler. It can be concluded that the correlation in one space is a natural thing occurring between one location and another, and this causing spatial autocorrelation (Hayati et al., 2019; Tobler, 1970). According to Tobler; although everything is related to each other, those in close range tend to be more related than those in long distances. This observation, geographical data analysis, and emphasizes the concept of autocorrelation Salima et al., (2018). Spatial autocorrelation can also be expressed as the process of evaluating the properties of spatial objects as positive or negative depending on the distance. Spatial autocorrelation

is expressed in three different ways. Positive Autocorrelation is called the clustering of objects close to each other and showing similar properties. Negative Autocorrelation is defined as the objects being close to each other but not showing similar characteristics. And finally, zero autocorrelation means that there is a random pattern and attributes are independent of location (Goodchild, 1986; Griffith, 1992). Spatial autocorrelation indices such as Moran's I, Geary C and Gets G are frequently used in the literature. The first step in spatial autocorrelation analysis is to create spatial weights. The distance of objects is entered as a weight to define spatial relationships; here autocorrelation of neighboring objects is more important than autocorrelation of distant objects (Anselin, 2003; Redecker et al., 2020).

Spatial Weight Matrix: An important aspect of defining spatial autocorrelation is the determination of "neighborhoods" of the data set in a particular area. The neighborhood structure of a dataset is optimally formulated in the form of a spatial weight matrix W. The spatial weight matrix nxn is a positive matrix also it expresses the existence of a neighboring relationship as a binary relationship Fischer and Wang, (2011). Spatial Weight Matrix (SWM), spatial between observations it is a clear expression of addiction. In other words, spatial values exist between values in a dataset. It provides a numerical expression of relationships and can be determined in many ways. The weight matrix can be calculated based on the polygonal border (shape) contiguity or distance between points. It takes 1 if the zone boundaries are shared and 0 if not shared in the contiguity based weight matrix. It means that symmetric matrix (Anselin, 2002; Seya, 2020; Zeng, 2019). The most used SWMs in the literature are known as rook's case, queen's case, nearest neighbor, reverse distance, fixed distance. In the rook based contiguity relationship, only the edge neighborhoods are taken into account in four directions adjacent to each cell while in the queen-based relationship, neighbors in all directions are taken into account. Moreover, in Bishops contiguity relationship only is taken into account the diagonals of the location Mathur, (2015). First-order rook contiguity SWM was created in the study because first-order rook contiguity SWM describes with neighbors observations that share common boundaries.

Moran's I, Geary C and Gets Ord G Indices: The Moran's index was developed by Patrick A Alfred Pierce Moran in 1950 as a statistical tool to calculate spatial autocorrelation Moran, (1950). Moran's I and Geary c indices have statistic local versions that are used to define similar values. In literature, Moran's I index is one of the most widely used indices to show spatiality. Moran's I is an indicator for both measuring spatial autocorrelation and distinguishing the spatial clusters and outliers. In order to

calculate the Moran's I, it first calculates mean value then both the values of neighboring features and target feature compare with the mean value. Moran's I can be defined as equation 1:

$$I = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})}{(\sum_i \sum_j w_{ij}) \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (1)$$

Here, the number of spatial units is denoted by N. Wij represents the spatially weighted matrix, while Xi and Xj represent the value of the variables (Pujianto et al., 2020; Sung et al., 2020). The calculated I value takes a value between [-1,1]. It means that, a positive autocorrelation when the value converges to 1, a negative autocorrelation when converging towards -1. If I value is equal to zero, it means that there is no spatial autocorrelation. Positive spatial autocorrelation in the dataset means that similar values tend to be spatially clustered, but in negative spatial autocorrelation it means that higher values tend to accumulate near the low values; this means that similar values are not clustered in space (Aksha et al., 2018; Mitchel, 2005).

Although the calculation of Geary C and Moran's I indices are similar, their interpretation is different. C value calculated in Geary C index gets value in the range from 0 to 2. Typically it can be interpreted as positive spatial autocorrelation if the C value takes values less than 1 (that is, between 0 and 1), and negative spatial autocorrelation if it indicates values greater than 1 (that is between 1 and 2) (Geary, 1954; Wu & Kemp, 2019). Formally Geary c index is defined as Eq. (2):

$$C = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} (x_i - x_j)^2}{2(\sum_i \sum_j w_{ij}) \sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

While Moran's I compare the neighboring values with the mean value, Geary C index compares the two neighboring values directly to each other Anselin, (2019). Gi index calculates the using the distance-based neighborhood or adjacent features. To calculate Gi index (equation 3), once the value of each neighbor is multiplied by the weight of the target neighboring pair and the results are collected, the founded value is divided by the sum of the values of all features in the study area (Getis et al., 1992 ; Levine, 2013). Getis ord G index mathematical is defined as follows.

$$G_i(d) = \frac{\sum_j w_{ij}(d)x_j}{\sum_j x_j} \quad (3)$$

While the attribute values are multiplied by 1 neighbors feature, the others are multiplied by 0. Therefore only the values of the neighbors are included. If the calculated G value is larger from the expected value, it

indicates that the high values are clustered together, which indicates the hot spots. In contrast, if the value of G is less than the expected value, the low values are clustered together, which indicates cold spots (Mitchel, 2005; Ren et al., 2020).

The geostatistics program GeoDa used in the study is a free and open-source software tool which is an introduction to spatial data analysis. It is designed to provide new insights from data analysis by exploring and modeling spatial patterns. GeoDa was developed by Dr. Luc Anselin and his team. The program provides a user-friendly and graphical interface for the implementation of spatial data analysis (ESDA) methods such as spatial autocorrelation statistics for aggregate data and basic spatial regression analysis for point and polygon data GeoDa, (2003). ArcGIS is software produced by ESRI and helps to solve all GIS related problems. ArcGIS provides a scalable framework for implementing GIS for a single user or many users on desktops, in servers, over the webs, and in the field.

RESULTS AND DISCUSSION

According to TABB data, all provinces except Nevşehir have experienced a flood incident. The total number of floods recorded is 776. Flooding disaster occurred the most frequently in Istanbul (52), Erzurum (49), Gümüşhane (39), Ankara (29) (Figure 2).

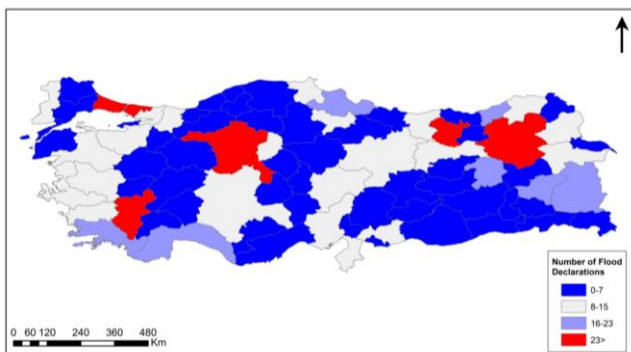


Figure 2. The Number of flood declarations in Turkey. According to the TABB data, the map shows the number of times floods were declared in Turkey.

In the assessment made for landslide disaster, it is seen that all provinces are affected to a specific extent by a landslide. When provinces are examined one by one according to the number of landslide incidents; the most common landslide events are observed in Artvin (76), Trabzon (73), Rize (68), Giresun (61) and Erzurum (60)(Figure 3).

Firstly, Moran's I value was tested by using the spatial weight matrix formed according to neighborhood relationships in order to examine the spatial autocorrelation of landslide and flood data. The Moran scatter

plot is a useful tool that can visually describe the relationship between observations and their neighbors. A Moran scatter plot is a plot that is variable of interest on the x -axis and the spatial lag on the y -axis. Figures 4 and 5 show the relationship between the landslide and flood numbers (X -axis) and the mean values of the neighboring landslide and flood number (Y -axis) whose weight is calculated using first-order rook contiguity spatial weight matrix.

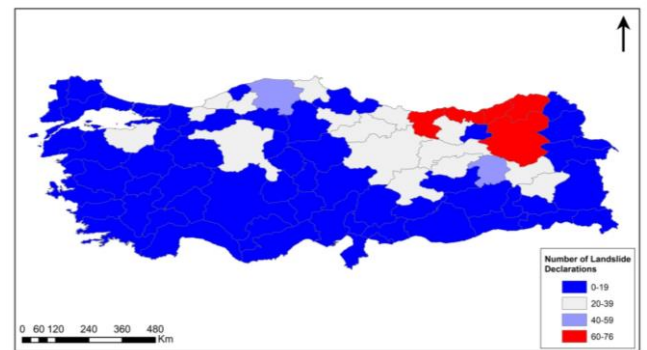


Figure 3. The Number of landslide declarations in Turkey. According to the TABB data, The map shows the number of times landslides were declared in Turkey.

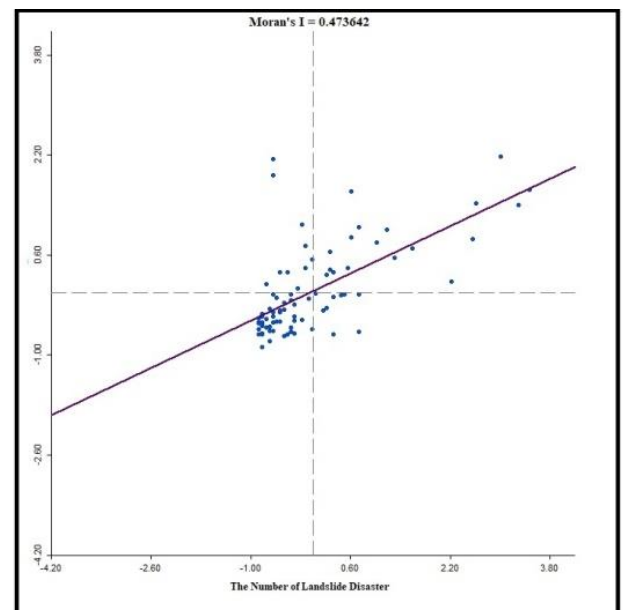


Figure 4. Moran scatter plot of the number of landslide disasters of provinces in Turkey.

In the Moran scatter plot, there are four quarters express the type of spatial relationship between observations and their neighbors. This scatter plot shows the value of the original variable (the number of landslide disaster) on the horizontal axis and the spatial lag of the variable (average the number of landslide disaster neighbors) on the vertical axis.

The four quarters on the graph are expressed as high-high (top right), low-low (bottom left), high-low (bottom right) and low-high (top left). While high-high

(upper right) and low-low (lower left) indicate positive spatial autocorrelation, low-high (upper left) indicate negative spatial autocorrelation. The upper-right quarter of the graph corresponds to the areas where the provinces with the highest landslide numbers are surrounded by the provinces with the highest landslide numbers. The left-lower quarter indicates that the provinces with low landslides again surrounded by the provinces with low landslides (low-low).

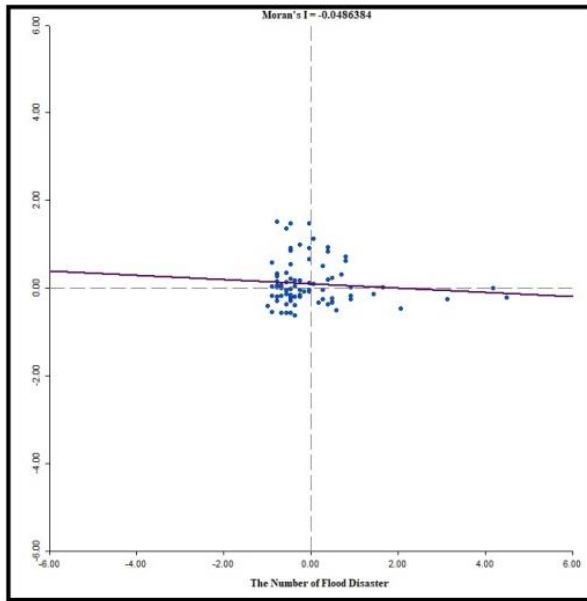


Figure 5. Moran scatter plot of the number of the flood disaster of provinces in Turkey.

In our study, the slope of the regression line in the Moran scatter plot for landslides is 0.473642 while the slope of the regression line in the Moran scatter plot for the flood is -0.0486384. In this case, the landslide distribution in Turkey implies that there is positive spatial autocorrelation. In the flood distribution in Turkey is seen as negative autocorrelation. Therefore, dispersed values are observed.

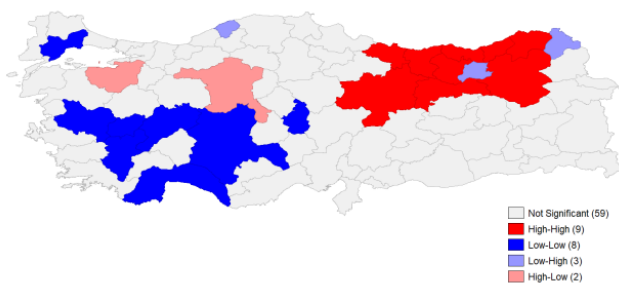


Figure 6. Spatial distribution of the number of landslides according to Moran's I index.

The landslide map obtained by Moran's I method is shown in Figure 6. The high-high and low-low locations is that mean spatial clusters, although the high-low and

low-high locations are typically referred to as spatial outliers. Accordingly, landslide settlements in Turkey, particularly are concentrated in the east and northeast of the Black Sea region of Anatolia. On the other hand, it is observed that landslide disasters constitute a significant spatial class in low-low classification too (Table 1). The regions that indicate low-low locations are the Aegean, Western Anatolia, Central Anatolia, and the Mediterranean. In our study, it is understood that there is no clustering since the Moran's value calculated for flood disaster is below zero. In other words, it appears to be a dispersed pattern. It is shown in figure 7.

Table 1. According to Moran's I analysis, the distribution of landslide events according to settlement units.

Class	Statistical Region	Province
High-High	TR9	Giresun,Rize,Ordu,Artvin,Trabzon,Gümüşhane
	TRA	Erzurum,Erzincan
	TR3	Denizli,Manisa, Uşak,Afyon
	TR2	Tekirdağ
Low-Low	TR6	Antalya
	TR7	Nevşehir
	TR5	Konya

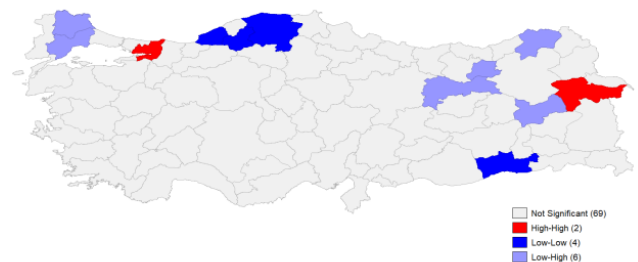


Figure 7. Spatial distribution of the number of flood disaster according to Moran's I index.

Another spatial autocorrelation index used in this study is Geary C. Positive spatial autocorrelation in Geary C method is defined as small differences imply similarity. This association can identify as high-high or low-low. For negative spatial autocorrelation in Geary C implies large values imply dissimilarity.

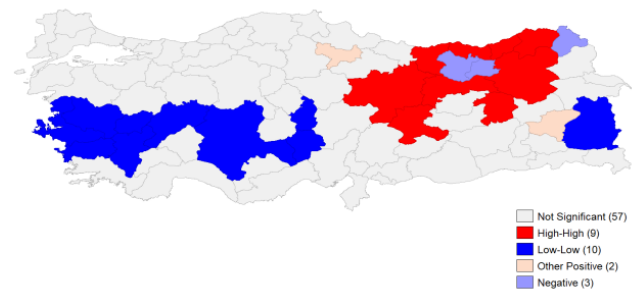


Figure 8. Spatial distribution of the number of landslides according to Geary C index.

As shown in Figure 8, there are 9 such high-high locations and 8 low-low locations. There are 2 locations with positive spatial autocorrelation classified as other

positive in this case. There are three observations with negative spatial autocorrelation. Three locations are shown dispersed. According to the Geary c index, the settlements where the number of landslides is high, are concentrated in the Black Sea region (Artvin, Rize, Trabzon, Giresun), North-eastern Anatolia region (Erzurum, Erzincan), Middle East Anatolia (Bingöl, Malatya). It is observed that the provinces showing low-low relationship where the number of landslides is low, constitute a spatial class in the Aegean region (Aydın, Denizli, Manisa, Aydın), Mediterranean region (Adana), Central Anatolia region (Niğde, Nevşehir) and Western Anatolia region (Konya). On the other hand, as shown in Figure 9, no significant spatial distribution was observed for floods.

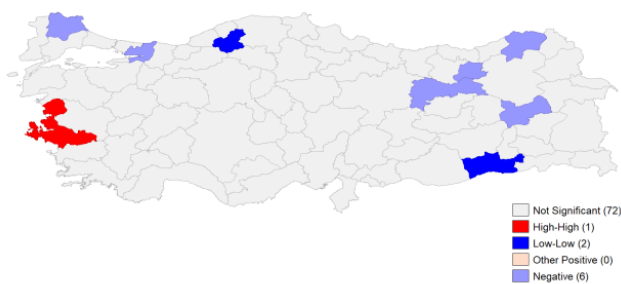


Figure 9. Spatial distribution of the number of floods according to Geary C index.

Getis and Ord suggested third indices for local spatial autocorrelation. The Get-Ord G index is interpreted as high-high clustering or hot spots if the G value is larger than the expected value and it is interpreted as low-low clustering or cold spots if the G value is smaller than the expected value. While Local Moran and Local Geary statistics consider the spatial outliers, the Getis-Ord G does not take into account spatial outliers.

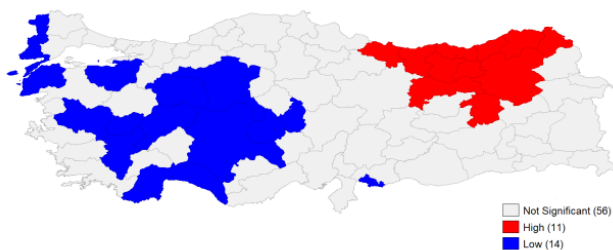


Figure 10. Spatial distribution of the number of landslides according to Getis Ord G index.

The corresponding cluster map, illustrated in Figure 10, shows 11 high-high cluster cores or hot spots (in red on the map), and 14 low-low cluster cores or cold spots (in blue on the map). For landslide data, it was observed that the locations determined for Local Moran were the same.

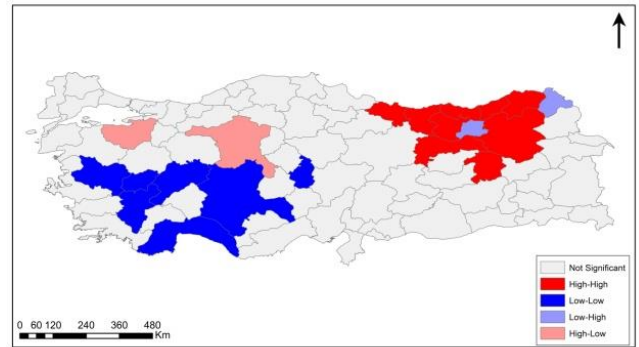


Figure 11. Spatial distribution of the number of landslides according to ArcGIS.

ArcGIS is a full-fledged GIS application with editing, mapping, data analysis and database management features. While the GeoDa program has the advantage of being free software for spatial data analysis that focuses on time series and spatial clustering, there are also cartographically insufficient aspects (Figure 11).

CONCLUSION

Spatial autocorrelation can be a useful tool to examine how spatial patterns change over time. This study has tried to investigate and reveal spatial patterns of landslides and floods in Turkey. In this respect, the spatial distribution of landslides and flood disasters were examined using spatial autocorrelation techniques. Moran's I value was calculated for both landslide and flood disaster and relationship types were shown with Moran scatter diagram. Local spatial relations were investigated by local analysis.

As a result, the Eastern Black Sea region and North-East Anatolia around the cities of Erzurum and Erzincan was emerged as the mostly landslide occurred settlements with the clusters of three applied indices. It helps the decision makers to direct the strategic efforts to reduce landslide damages or their risks and concentrate the efforts on these regions. According to TABB data TABB, (2019) flood incidents have occurred in all provinces of the study region Turkey within the studied time period. Clustering was not observed when these indexes were applied due to the dispersed data of the provinces. That's why, different spatial indices which do not focus on the location but the distribution of the events with respect to reasons of the incidents could be helpful for the dispersed data for the future studies. An example for flood another incidence like meteorological events may also be added with the topography and the most prone areas for flood can be identified with the TABB (2019) data. Presenting the distribution of disasters with spatial autocorrelation methods will give a different dimension to the studies. And

using the real world data like in TABB will help to estimate the upcoming disasters in the future.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are thankful to Turkey Disaster Knowledge Base (TABB) which is being carried out by the Ministry of Interior of Disaster and Emergency Management Presidency of Turkey.

REFERENCES

- AFAD. (2015).** *Preparation of integrated hazard maps landslide-rock fall basic guide.* Ministry of Interior Disaster and Emergency Management Presidency, Ankara, Turkey, 152p.
- Aksha, S.K., Juran, L. & Resler, L.M. (2018).** Spatial and temporal analysis of natural hazard mortality in Nepal. *Environmental Hazards*, **17**(2), 163-179. DOI: [10.1080/17477891.2017.1398630](https://doi.org/10.1080/17477891.2017.1398630)
- Anselin, L. (2002).** Under the hood issues in the specification and interpretation of spatial regression models. *Agricultural Economics*, **27**(3), 247-267. DOI: [10.1111/j.1574-0862.2002.tb00120.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-0862.2002.tb00120.x)
- Anselin, L. (2003).** Spatial externalities, spatial multipliers, and spatial econometrics. *International Regional Science Review*, **26**(2), 153-166. DOI: [10.1177/0160017602250972](https://doi.org/10.1177/0160017602250972)
- Anselin, L. (2019).** A local indicator of multivariate spatial association: Extending Geary's c. *Geographical Analysis* **51**(2), 133-150. DOI: [10.1111/gean.12164](https://doi.org/10.1111/gean.12164)
- CRED. (2019).** *Natural disaster in 2018.* Centre for Research on the Epidemiology of Disasters (CRED), Brussels, Belgium, 8p.
- Fidan, S. & Gorum, T. (2019).** Spatial and temporal distribution of fatal landslides in Turkey from 1929 to 2018. *1st Istanbul International Geography Congress*, 20-22 June 2019, Istanbul, Turkey, 1109-1110.
- Fischer, M. & Wang, J. (2011).** *Spatial data analysis models, methods and techniques.* Springer Briefs in Regional Science, 82p.
- Geary, R.C. (1954).** The contiguity ratio and statistical mapping. *The Incorporated Statistician* **5**(3), 115-145.
- GeoDa. (2003).** GeoDa user's guide, Spatial Analysis Laboratory Department of Agricultural and Consumer Economics University of Illinois, Urbana.
- Getis, A. & Ord, J.K. (1992).** The analysis of spatial association by use of distance statistics. *Geographical Analysis* **24**(3), 189-206.
- Gokce, O., Ozden, Ş. & Demir, A. (2008).** *Spatial and statistical distribution of disasters in Turkey,* Republic of Turkey Ministry of Public Works and Settlement General Directorate of Disaster Affairs and Disaster Damage Assessment Studies Department, Ankara, Turkey, 127p.
- Goodchild, M. (1986).** *Spatial autocorrelation.* GeoBooks, Norwich, UK, 57p.
- Griffith, D.A. (1992).** What is spatial autocorrelation? Reflections on the past 25 years of spatial statistics. *L'Espace Géographique* **21**, 265-80.
- Hayati, M., Purnamasari, I. & Wahyuningsih, S. (2019).** Analysis of spatial autocorrelation of diarrhea events in East Kalimantan in 2015-2017 using a local indicator of spatial autocorrelation. *Journal of Physics: Conference Series*, **1277** (2019). DOI: [10.1088/1742-6596/1277/1/012045](https://doi.org/10.1088/1742-6596/1277/1/012045)
- Levine, N. (2013).** CrimeStat IV: Spatial Autocorrelation Statistics, In: Levine, N. (Ed), *A Spatial Statistics Program for the Analysis of Crime Incident Locations (version 4.0)*, Ned Levine & Associates, Houston, TX, and the National Institute of Justice, Washington, DC.
- Mathur, M. (2015).** Spatial autocorrelation analysis in plant population: An overview. *Journal of Applied and Natural Science* **7** (1), 501 – 513. DOI: [10.31018/jans.v7i1.639](https://doi.org/10.31018/jans.v7i1.639)
- Mitchel, A. (2005).** *The ESRI guide to GIS analysis, Volume 2: Spatial measurements and statistics. 1st ed.,* ESRI, California, USA, 252p.
- Moran, P.A.P. (1950).** Notes on continuous stochastic phenomena. *Biometrika*, **37**, 17-23.
- Pujianto, M., Raharjo, M., & Nurjazuli, N. (2020).** Spatial pattern analysis on Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) disease in Tanjung Emas port area using Moran index. *International Journal of English Literature and Social Sciences (IJELS)*, **5**(2). DOI: [10.22161/ijels.52.11](https://doi.org/10.22161/ijels.52.11)
- Qiu, H., Cui, Y., Hu, S., Yang, D., Pei, Y., & Yang, W. (2019).** Temporal and spatial distributions of landslides in the Qinba Mountains, Shaanxi Province, China. *Geomatics, Natural Hazards and Risk*, **10**(1), 599-621. DOI: [10.1080/19475705.2018.1536080](https://doi.org/10.1080/19475705.2018.1536080)
- Redecker, A., Burian, J., Moos, N., & Macků, K. (2020).** Spatial Analysis in Geomatics. In: Paszto, V., Jürgens, C., Tominc, P. & Burian, J. (Ed), *Spatonomy* 65-92p, Springer, Cham, Switzerland.

- Ren, H., Shang, Y. & Zhang, S. (2020).** Measuring the spatiotemporal variations of vegetation net primary productivity in Inner Mongolia using spatial autocorrelation. *Ecological Indicators*, **112**, 106-108. DOI: [10.1016/j.ecolind.2020.106108](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106108)
- Salima, B. & Bellefon, M.P. (2018).** Spatial autocorrelation indices. In: Loonis, V. & Bellefon, M. P. (Ed), *Handbook of spatial analysis, 1st ed.*, 52-68p, Insee, Eurostat, Montrouge, France.
- Seya, H. (2020).** Global and local indicators of spatial associations. In: Yamagata, Y. & Seya, H. (Ed), *Spatial Analysis Using Big Data*, 33-56p, Elsevier.
- Sung, C. H. & Liaw, S.C. (2020).** A GIS-based approach for assessing social vulnerability to flood and debris flow hazards. *International Journal of Disaster Risk Reduction*, **46**. DOI: [10.1016/j.ijdr.2020.101531](https://doi.org/10.1016/j.ijdr.2020.101531)
- TABB. (2019).** Turkey disaster knowledge base (analysis and document module), The Ministry of Interior of Disaster and Emergency Management Presidency of Turkey (AFAD).
- Tobler, W.R. (1970).** A computer movie simulating urban growth in the Detroit region. *Economic Geography*, **46**, 234-240.
- TSI. (2006).** *The data: coverage, periodicity and timeliness*. Turkish Statistical Institute, Turkey, 8p.
- Wang, Q., Zhang, Q.P., Liu, Y.Y., Tong, L.J., Zhang, Y.Z., Li, X.Y. & Li, J.I. (2020).** Characterizing the spatial distribution of typical natural disaster vulnerability in China from 2010 to 2017. *Natural Hazards*, **100**(1), 3-15. DOI: [10.1007/s11069-019-03656-7](https://doi.org/10.1007/s11069-019-03656-7)
- Wu, A.M. & Kemp, K.K. (2019).** Global measures of spatial association. In: Wilson, J.P. (Ed), *The geographic information science & technology body of knowledge, 1st ed.*, UCGIS, New York, USA. DOI: [10.22224/gistbok/2019.1.12](https://doi.org/10.22224/gistbok/2019.1.12)
- Zeng, C. (2019).** Spatial spillover effect on land conveyance fee-A multi-scheme investigation in Wuhan agglomeration. *Land Use Policy*, **89**, 104196. DOI: [10.1016/j.landusepol.2019.104196](https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2019.104196)



The Toxic Effects of Commonly Used Antibiotics in Turkey on Aquatic Organisms

V. Zülal SÖNMEZ^{1,2*} Nüket SİVRİ¹

¹Department of Environmental Engineering, İstanbul University-Cerrahpaşa, 34320, İstanbul, Turkey.

²Department of Environmental Engineering, Düzce University, 81620, Düzce, Turkey.

Geliş/Received: 10.02.2020

Kabul/Accepted: 14.04.2020

How to cite: Sönmez, V.Z. & Sivri, N. (2020). The Toxic Effects of Commonly Used Antibiotics in Turkey on Aquatic Organisms. J. Anatolian Env. and Anim. Sciences, 5(2), 154-160.

Atıf yapmak için: Sönmez, V.Z. & Sivri, N. (2020). Türkiye'de Yaygın Olarak Kullanılan Antibiyotiklerin Sucul Organizmalar Üzerindeki Toksik Etkileri. Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi, 5(2), 154-160

* : <https://orcid.org/0000-0002-7488-2996>

: <https://orcid.org/0000-0002-4269-5950>

***Corresponding author's:**

V. Zülal SÖNMEZ

Department of Environmental Engineering,
İstanbul University-Cerrahpaşa, 34320,
İstanbul, Turkey.

✉: zulal.kiremitci@istanbul.edu.tr

Mobile telephone : +90 (530) 153 89 99

Fax : +90 (212) 473 71 80

Abstract: Antibiotic pollution has the potential to directly affect the health of people, animals and the ecosystem. The presence of antibiotics in the environment can impede the structure of microbial community, having both acute and chronic effects on microbial and planktonic communities. In Turkey, the three most prevalent antibiotics detected in aquatic environment are Amoxicillin, Tetracycline and Nitrofurantoin, but there is almost no information on their toxicity on natural microbial communities. Particularly, there is no data available for marine microorganisms. While the amount of toxicity levels for humans is well known, there is less knowledge about toxic concentration in wildlife, especially smaller and more vulnerable organisms. Consequently, the purpose of this current study is to evaluate the acute toxicity of Amoxicillin, Tetracycline and Nitrofurantoin to the natural water ecosystem, a complex ecological group comprising a variety of bacterial and planktonic species. It is seen that antibiotics are practically non-toxic (>100 mg/L) in the classification of acute toxicity according to *Daphnia magna*. It is not possible to mention about toxicity in this case, but when considering the toxicity of antibiotics among themselves, the ranking is like Tetracycline > Nitrofurantoin > Amoxicillin. The same toxicity ranking is encountered in the acute toxicity test made with *Vibrio fischeri*. However, in the acute toxicity test made with *Vibrio fischeri*, the results are toxic for Tetracycline (2.53 mg/L), Nitrofurantoin (15.67 mg/L) and Amoxicillin (56.23 mg/L). While antibiotics have an acute effect on bacterial structures, they tend to have a chronic effect and bioaccumulation properties on Daphnids.

Keywords: Antibiotics, acute toxicity, bioassays, *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*, Turkey.

Türkiye'de Yaygın Olarak Kullanılan Antibiyotiklerin Sucul Organizmalar Üzerindeki Toksik Etkileri

Öz: Antibiyotik kirliliği, insan, hayvan ve ekosistem sağlığını doğrudan etkileme potansiyeline sahiptir. Çevrede antibiyotiklerin varlığı, mikrobiyal topluluk yapısını engelleyebilir ve mikrobiyal ve planktonik topluluklar üzerinde hem akut hem de kronik etkileri olabilir. Türkiye'de su ortamında tespit edilen en yaygın üç antibiyotik Amoksisilin, Tetrasiklin ve Nitrofurantoin'in, doğal mikrobiyal topluluklar üzerindeki toksisiteyi hakkında neredeyse hiçbir bilgi yoktur. Özellikle, deniz mikroorganizmaları için hiçbir veri yoktur. İnsanlar için toksisite seviyeleri oldukça iyi bilirse de, doğal hayatta özellikle daha küçük ve daha duyarlı organizmalardaki toksik konsantrasyon hakkında daha az bilgi vardır. Bu nedenle, bu çalışmanın amacı Amoksisilin, Tetrasiklin ve Nitrofurantoin'in çeşitli bakteriyel ve planktonik türleri içeren karmaşık bir ekolojik topluluk olan doğal su ekosistemi üzerindeki akut toksisitesini değerlendirmektir. *Daphnia magna*'ya göre akut toksisite sınıflandırmasında antibiyotiklerin pratik olarak toksik olmadığı (>100 mg/L) görülmektedir. Bu durumda toksisiteden bahsetmek mümkün değildir, ancak kendi aralarında antibiyotiklerin toksisitesi göz önüne alındığında, sıralama Tetrasiklin> Nitrofurantoin> Amoksisilin şeklinde olmaktadır. *Vibrio fischeri* ile yapılan akut toksisite testinde aynı toksisite sıralamasına rastlanmaktadır. *Vibrio fischeri* ile yapılan akut toksisite testinde, sonuçlar Tetrasiklin (2.53 mg/L), Nitrofurantoin (15.67 mg/L) ve Amoksisilin (56.23 mg/L) için toksik olmaktadır. Antibiyotikler, bakteriyel yapılar üzerinde akut bir etkiye sahipken, Daphnidler üzerinde kronik bir etki ve bioakümülayon özelliklerine sahip olma eğilimindedir.

Anahtar kelimeler: Antibiyotikler, akut toksisite, biyodeneyleyler, *Daphnia magna*, *Vibrio fischeri*, Türkiye.

***Sorumlu yazar:**

V. Zülal SÖNMEZ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Çevre
Mühendisliği Bölümü, 34320, İstanbul,
Türkiye

✉: zulal.kiremitci@istanbul.edu.tr

Cep telefonu : +90 (530) 153 89 99

Faks : +90 (212) 473 71 80

INTRODUCTION

Antibiotics are often found in the aquatic environment, because of their utilization in human and veterinary medicine. Information relating their exposure, fate and ecotoxicology has been reviewed by Kümmerer, (2009a, 2009b) and Santos et al., (2010) (Johansson et al., 2014). Up to 90% of antibiotics applied to the organism are excreted from the body before being metabolised (Kemper, 2008; Topal et al., 2015) and discharged into sewage system (Diwan et al., 2018; Gomez-Olivan, 2016; Yasser & Adli, 2015). The conventional wastewater treatment plants (WWTPs) are not fully effective at antibiotic elimination. Several antibiotics are partially removed between 20% and 90% (Ai & Jiang, 2012; Liu et al., 2017; Watkinson, 2007) due to recalcitrant compounds (Chen & Zhou, 2014). WWTPs are considered as the source of antibiotics and antibiotic resistance genes for surface waters (Diwan et al., 2018; Gomez-Olivan, 2016). For this reason, studies are carried out on the development of innovative technologies for antibiotic removal in WWTPs. However, these implementations are not covered sufficiently because of operating costs (Grenni et al., 2018).

Antibiotics occur in surface waters at very low concentrations (ng/L-µg/L) (Gomez-Olivan, 2016). It can be observed that there are differences regarding seasonal distribution of pharmaceutical products usage in Turkey. It is known that antibiotic concentrations in wastewater are higher in winter with changes in annual consumption data (Grenni et al., 2018). For instance, in winter months at coastal area of Istanbul, the concentration of antibiotic agent sulfamethoxazole varied between 6,7 and 14,0 ng/L. The availability of antibiotics in the aquatic environment is depending on not only continuity of their discharges but also their permanence in the aquatic environments. For instance, while Penicillins can easily deteriorate, Ciprofloxacin and Tetracyclines are far more stable (Grenni et al., 2018). Even this low concentration can cause negative effect on the survival, growth and body weight of the aquatic organisms (Ahmed et al., 2015; Ji et al., 2012; Lai et al., 2009; Wollenberger et al., 2000). Some antibiotics can cause both acute and chronic toxicity, as well as a variety of negative effects including disruption of aquatic photosynthetic organisms, impacts on indigenous microbial groups, and damage to antibiotic resistance genes in microorganisms (Aristilde et al., 2010; Hong et al., 2013; Liu et al., 2017, Akkan & Topkaraoğlu, 2019; Sezener et al., 2019). For that reason, the presence of antibiotics can affect water quality of surface water, and in the long run cause negative impact on coastal areas and naturally the biodiversity (URL 1).

It is known that over 250 different antibiotics are being used in human and veterinary medicine (Ahmed et

al., 2015; Kümmerer & Henninger, 2003). Antibiotics have been used to treat infection-related diseases therapeutically, and to protect their health for years (Ahmed et al., 2015). Each antibiotic is a synthetic structure with a complex formula containing the properties of its own class. For instance, Amoxicillin is a semisynthetic penicillin and a medicine which is an analogue for ampicillin (Gomez-Olivan, 2016). It is one of the antibiotics used in treatment of infections of ear, respiratory tract, sinus, skin and urinary system caused by bacteria. It is included in *Essential Medicine List of World Health Organization*, and it is one of the most prescribed antibiotics for children (URL 2). In addition, according to the data published by the *Republic of Turkey Ministry of Health*, prescribed antibiotics is over 30% across Turkey in 2015 (URL 3). In the light of this information, the most prescribed antibiotic is the Amoxicillin-derived antibiotics. Tetracycline is an antibiotic which is used to treat and prevent the infectious diseases. However, the explanation for this intensive production is both its low cost and its use as a food additive to increase the growth rate of healthy animals (Daghrir & Drogui, 2013; Martins et al., 2015). Nitrofurantoin is another antibiotic and commonly used in the treatment of urinary tract infections. It is active on many gram-positive and gram-negative bacteria, especially *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and enterococci strains (Eldem & Hincal, 1987).

Amoxicillin, Tetracycline, Nitrofurantoin are amongst the most used antibiotic classes and they are often found in aquatic environments in Turkey. However, all the classes are mainly observed in freshwater environments, with simplest a very few researches published on their occurrence inside the marine environment in Turkey. Similarly, it is essentially absent the statistics on the toxicity of these three antimicrobial classes to marine microorganisms which are possibly the most vulnerable group of marine organisms.

In literature, different toxicity test organisms have been used to determine the acute and chronic toxicity of antibiotics (Halling-Sorensen, 2000; Jung et al., 2008; Robinson et al., 2005; Wang et al., 2008; Wollenberger et al., 2000). *Daphnia magna*, which is a zooplankton generally observed in freshwater lakes and ponds, is one of the most frequently used organisms in ecotoxicity tests (Celebi & Sponza, 2009; Zhu et al., 2009). In Ecological Risk Assessments of Antibiotics, toxicity tests are used that target bacteria such as *Vibrio fischeri* with OECD and ISO methods (Backhaus et al., 2000; Backhaus & Grimme, 1999; Celebi & Sponza, 2008; Grenni et al., 2018; Tongur et al., 2019; Yıldırım, 2015).

Therefore, aim of this current study is to evaluate the acute toxicity of Amoxicillin, Tetracycline and

Nitrofurantoin on natural water ecosystem which is a diverse ecological population comprising a number of bacterial and planktonic species. Thus, the effect of antibiotics on organisms at two different trophic levels of the aquatic ecosystem was evaluated.

MATERIAL AND METHOD

The Selection and Preparation of Antibiotics: In this study, synthetic samples were prepared with medicines containing the active ingredients of Amoxicillin, Tetracycline and Nitrofurantoin. With distilled water, stock solutions were prepared. Because the selected antibiotics have low water solubility, hydro alcoholic (< 1% ethanol) solution was used. According to standard international procedures, it is stated that hydro alcoholic solution is not toxic for test organisms in cases that ethanol concentration is not more than 1% (Yıldırım, 2015). This ratio has been confirmed by preliminary experiments. When preparing stock solutions for each medicine, the medicine is dissolved with <1% ethanol by volume and then completed with distilled water. Orbital shaker was used to provide homogeneous mixture (URL 4).

Daphnia magna Acute Immobilisation Test: The acute test was conducted as ISO 6341: Water Quality - Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia magna*, Straus (Cladocera, Crustacea). Daphnids (especially *Daphnia magna*) which are younger than 24 hours were exposed to sample concentrations. The vessels were filled with suitable amounts of dilution water and samples. Then, Daphnids were placed into test vessels. At least 2 ml of test solution needed for each test organism, so the volume of 20 ml test media for 10 daphnids was examined. During the test, the organisms were not fed and there was no aeration. At the same time, the temperature was adjusted to 22°C. Under the same conditions, the controls were carried out. After 24 and 48 hours, both immobility and unnatural behaviours were reported. At 24th and 48th hours, each vessel was inspected for immobilised daphnids. The daphnids were considered as immobile unless they were able to swim inside the vessel, all these were recorded. In order to calculate the average effective concentration (EC₅₀) value, immobilized/dead daphnids corresponding to each concentration will be used within the 95% confidence interval through Probit Analysis, suggestion of EPA (URL 5; EPA, 1991). Probit analysis is a type of regression used to analyze binomial response variables. It transforms the sigmoid dose-response curve to a straight line that can then be analyzed by regression either through least squares or maximum likelihood.

Bacterial Bioluminescence Bioassay (Acute Toxicity Test): Microtox® Acute Toxicity Test is

predicated on luminescence inhibition of the marine gram-negative bacteria. As test organism, Lyophilized *Vibrio fischeri* (NRRLB-11177) was selected and tested in standard protocol for producers (Microtox® Manual, 1992). Bacterial suspension was added to the sample osmotically arranged with 2% NaCl and to the sample dilutions. Photometry was performed regularly after the bacteria had been exposed to the sample. Acute toxicity tests were performed via Microtox Model 500 Analyser. The manufacturer suggested the Basic Test (45%) for samples of uncertain toxicity and wastewater (Sönmez & Sivri, 2016; Sönmez & Sivri, 2020). For implementation of this test, the exposure time was selected as 15 minutes and EC₅₀ values were found.

RESULTS AND DISCUSSIONS

In this study, two main topics were focused. The first one was to evaluate the effects of acute toxicity of antibiotics on natural water ecosystem with bacterial and planktonic species. The other aim was to compare and interpret the acute toxicity results found. For acute toxicity test with *Daphnia magna*, preliminary tests were made, and the concentration range was chosen that daphnids could respond as dead/immobile against the antibiotics. Accordingly, all antibiotics were studied at the concentration of 2000 mg/L for *Daphnia magna* acute test. The result values of *Daphnia magna*'s 24-hour exposure to three different antibiotics (Amoxicillin, Tetracycline and Nitrofurantoin) as EC₁₀, EC₂₀, EC₅₀ and EC₉₀ are given in Figure 1. These results were found with the mean values obtained as a number of repetitions (n=14). Especially when examining the EC₅₀ results, it is seen that its value is over 1000 mg/L for all antibiotics. Accordingly, it can be stated that 24-hour exposure of antibiotics on *Daphnia magna* has non-toxic property when they are subjected to the classification of acute toxicity.

It is seen that low concentrations of general antibiotics such as Streptomycin and Erythromycin affect the survival and behaviour of organisms in primary consumer trophic class such as *Daphnia magna* (Flaherty & Dodson, 2005) and *Artemia* sp. (Migliore et al., 1997). In further studies, it is emphasized the effect of antibiotic toxicity after exposure of organisms to the UV radiation in natural environment. For this reason, it becomes difficult to evaluate the relationship between laboratory studies and antibiotic toxicity in natural environments (Kraemer et al., 2019).

The result values of *Daphnia magna*'s 48-hour exposure to three different antibiotics (Amoxicillin, Tetracycline and Nitrofurantoin) as EC₁₀, EC₂₀, EC₅₀ and EC₉₀ are given in Figure 2. Unlike the 24-hour results, values of this exposure are below 1000 mg/L. Accordingly, EC₅₀ values of the exposure result of Amoxicillin,

Tetracycline and Nitrofurantoin with *Daphnia magna* are respectively 627, 198, 878 and 432 mg/L. When examining the acute toxicity results according to the exposure times, it can be said that 48-hour exposure is more sensitive, but it is stated as practically non-toxic (>100 mg/L) in classification of acute toxicity. In this case, it is not possible to mention about toxicity. Yet still, it may provide insight into their effect levels, because antibiotics have chronic effects on daphnids-like organisms and cause bioaccumulation in high-level organisms. Considering their toxicity among themselves, the ranking can be expressed as Tetracycline > Nitrofurantoin > Amoxicillin. It can be thought that this difference is due to its chemical structure, like Grenni et al., (2018) stated in their studies, which is each of them has a more persistent structure compared to the other.

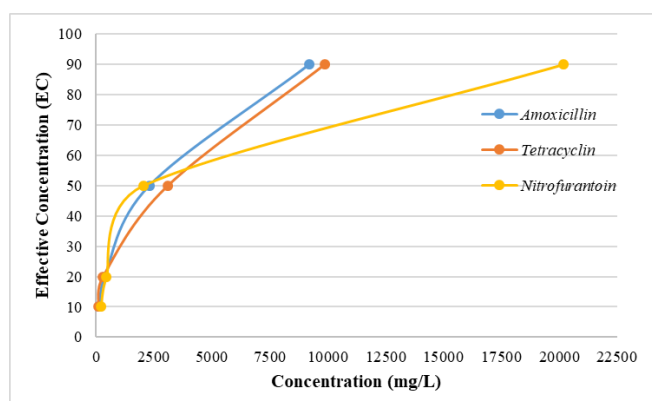


Figure 1: Results of acute toxicity test with *Daphnia magna* (24 hours).

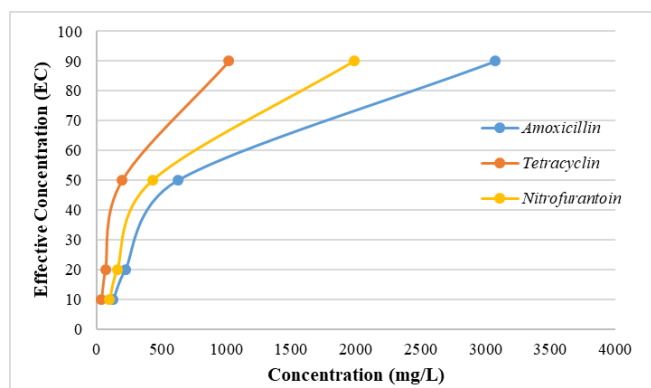


Figure 2: Results of acute toxicity test with *Daphnia magna* (48-hour).

Preliminary tests (n=11) were carried out to conduct the acute toxicity test with *Vibrio fischeri*. High concentrations of daphnids were studied but it was not possible to obtain a numerical value as all bacteria were inhibited. For this reason, antibiotic tests were prepared in the minimum concentration range that we can get a result from test (that bacteria can emit light). Accordingly, concentrations of Amoxicillin 4000 mg/L, Tetracycline 125 mg/L and Nitrofurantoin 250 mg/L were selected. 15th minute results of acute toxicity test with *Vibrio fischeri* are

given in Figure 3. All values obtained are below 100 mg/L and show toxic properties. These results were found with the mean values obtained as a number of repetitions (n=14).

Tetracycline, which was studied at the lowest concentration, has the highest toxicity (2.53 mg/L) as it has the lowest value with EC₅₀ Nitrofurantoin (15.67 mg/L) comes after Tetracycline in terms of toxicity. Both antibiotics are included in "extremely toxic" class. Amoxicillin has the lowest toxicity with an EC₅₀ value of 56.23 mg/L and it is included in "toxic" class with this result.

It is obvious that the potential effects of the studied antibiotics on natural microbial communities involved in important ecosystem functions are harmful. Some antimicrobials are bactericide for one bacterial pathogen, while they are bacteriostatic for another. Selected bacteriostatic agents inhibit the growth of bacterial cells but do not kill them; but bactericidal agents kill the bacteria instantly. As a result, these categories are not absolute, because the lethal effect of each medicine varies according to the test method and the tested species. As a result of the study, it is seen that some microbial groups may be lost because of bactericidal and bacteriostatic effects of antibiotics at high concentrations in the environment. Many studies have shown that the presence of antibiotics cause a decrease in microbial biodiversity. It is seen that antibiotics, even those with broad-spectrum, have a selective effect on various microbial groups (Genni et al., 2018).

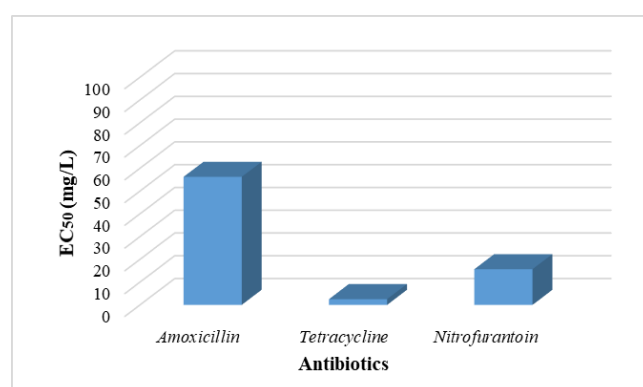


Figure 3: Results of acute toxicity test with *Vibrio fischeri* (15 minutes).

Comparing the results of acute toxicity tests with *Daphnia magna* and *Vibrio fischeri*, the studied antibiotics showed non-toxic properties on *Daphnia magna*, while they showed extremely toxic / toxic properties on *Vibrio fischeri*. It is seen that the studied Amoxicillin, Tetracycline and Nitrofurantoin are more sensitive and able to respond acutely on *Vibrio fischeri*. Another remarkable result is that the quantity of *Daphnia magna*'s response to these antibiotics has parallels with *Vibrio*

fischeri. Accordingly, the highest toxicity was found in Tetracycline and the lowest toxicity was found in Amoxicillin.

Tongur & Yıldırım, (2015) have studied the toxicity of antibiotics used in human and animal medicine and they have found that *Vibrio fischeri* is more sensitive than *Lepidium sativum*. In studies to reveal the toxic effect in aquatic environments, LC₅₀ value was found as 1000 mg/L as a result of 96-hour-exposure to Amoxicillin on *Oryzias latipes* and it has not been identified as an important toxic substance in the literature (Gomez-Olivan, 2016). Nevertheless, Andreozzi et al., (2004) have detailed that Amoxicillin includes a high toxicity at 96 hours within the blue green algae *S. leopoliensis* (EC₅₀ value of 2.22 µg/L) in concentrations between of 50 ng/L and 50 mg/L. Gomez-Olivan, (2016) explained that this difference in toxicity arose from organisms may be caused by trophic levels, even antibiotics at low concentrations may cause high toxicity in low structured organisms such as algae and bacteria. It is obvious that this effect, especially seen in single cells, will cause damage in aquatic environments. It is found in studies that antibiotic pollution in aquatic environments reduces the microbial diversity of the ecosystem, including taxa responsible for carbon cycle and primary production. In addition to aquatic ecosystem, antibiotic-based pollution observed in soil changes the microbial community structure and leads to loss of biomass and reduce of microbial activity (nitrification, denitrification and respiration) (Kraemer et al., 2019). For this reason, as determined in this study, it can be stated that the toxic effects of antibiotics are seen more clearly in bacterial species due to the difference in trophic levels in organisms.

CONCLUSION

The presence of antibiotics in the environment can impede the structure of microbial community, having both acute and chronic effects on microbial communities. Antibiotics may have effects on change of phylogenetic structure, resistance expansion, and ecological function disturbance in the micro-ecosystem. Moreover, it has also been detected the effects on ecological functions, such as nitrogen transformation, methanogens, and sulphate reduction. A lot of studies have found changes in the structure of microbial population upon the introduction of antibiotics in soil and water environments. These study results include findings and comments supporting previous studies. As a result of the studies, it can be predicted that irreversible destructions will occur in both aquatic and terrestrial ecosystems.

As recommendations considered necessary because of these study results, the factors influencing

antibiotic effects on microbial communities in soil and aquatic environments, including antibiotic concentration, exposure time and combination of effects of more than one antibiotic, should be examined in detail.

Furthermore, this study provides possible toxic effects of antibiotics in the natural environment. Nonetheless, it needs further study after the findings concerning the acute toxicity in order to provide a extensive risk assessment on the effects of anthropogenic antibiotic exposure in natural systems.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there is no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors especially thank Mrs. Nilay ELMACIOGLU, Mr. Vedat ELLIALTI and Mr. Görkem SANDIKCI for their assistance during field work and for excellent technical assistance.

This manuscript was presented with preliminary analysis results at the International Congress on Advances in Bioscience and Biotechnology (ICABB 2018), Podgorica, MONTENEGRO

REFERENCES

- Ahmed, M.B., Zhou, J.L., Ngo, H.H. & Guo, W. (2015). Adsorptive removal of antibiotics from water and wastewater: progress and challenges. *Science of the Total Environment*, **532**, 112-126.
- Ai, L. & Jiang, J. (2012). Removal of methylene blue from aqueous solution with Self-Assembled Cylindrical Graphene–Carbon Nanotube Hybrid. *Chemical Engineering Journal*, **192**, 156-163.
- Akkan, T. & Topkaraoğlu, T. (2019). Determination of Antibiotic Resistance Levels of *Escherichia coli* Isolates Obtained from Freshwater Sources: Batlama Creek, Gires. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(3), 539-544.
- Aristilde, L., Marichal, C., Miéché-Brendlé, J., Lanson, B. & Charlet, L. (2010). Interactions of Oxytetracycline with a Smectite Clay: A spectroscopic study with molecular simulations. *Environmental Science & Technology*, **44**, 7839-7845.
- Backhaus, T., Altenburger, R., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M. & Grimme, L.H. (2000). Predictability of the toxicity of a multiple mixture of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**(9), 2348-2356.

- Çelebi, H. & Sponza, D. (2008).** Amoksisilin Anaerobik Artılabilirliği. *ITU dergisi/e Su Kirlenmesi Kontrolü*, *18* (2-3), 41-50.
- Celebi H. & Sponza, D. (2009).** Anaerobic treatment of antibiotics, toxicity removal and biogas production. *14th National Biomedical Engineering Meeting*, Balçova, Izmir, 1-4.
- Chen, K. & Zhou, J. (2014).** Occurrence and behavior of antibiotics in water and sediments from the Huangpu River, Shanghai, China. *Chemosphere*, *95*, 604–612.
- Daghrir, R. & Drogui, P. (2013).** Tetracycline antibiotics in the environment: A review. *Environmental Chemistry Letters*, *11*(3), 209-227.
- Diwan, V., Hanna, N., Purohit, M., Chandran, S., Riggi, E., Parashar, V., Tamhankar, A.J. & Stalsby Lundborg, C. (2018).** Seasonal variations in water-quality, antibiotic residues, resistant bacteria and antibiotic resistance genes of *Escherichia coli* isolates from water and sediments of the Kshipra River in Central India. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *15*(1281), 1-16.
- Gomez-Olivan, L.M. (2016).** Amoxicillin in the Aquatic Environment, Its Fate and Environmental Risk. In: Marcelo L. Larramendy & Sonia Soloneski (ed.), *Environmental Health Risk - Hazardous Factors to Living Species*, 248-267 p, IntechOpen. <http://dx.doi.org/10.5772/62049>
- Eldem, T. & Hıncal, A.A. (1987).** Nitrofurantoin. *FABAD Journal of Pharmaceutical Sciences*, *12*, 170-178. (in Turkish).
- EPA (1991).** U.S Environmental Protection Agency, U.S. Army Corps of Engineers, *Short Term Methods for Estimating The Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Fresh Organisms*, Washington.
- Flaherty, C.M. & Dodson, S.I. (2005).** Effects of pharmaceuticals on *Daphnia* survival, growth, and reproduction. *Chemosphere*, *61*, 200–207.
- Grenni, P., Ancona, V. & Caracciolo, A.B. (2018).** Ecological effects of antibiotics on natural ecosystems: A review. *Microchemical Journal*, *136*, 25-39.
- Halling-Sørensen, B. (2000).** Algal toxicity of antibacterial agents used in intensive farming. *Chemosphere*, *40*(7), 731-739.
- Hong, P., Al-Jassim, N., Ansari, M. & Mackie, R. (2013).** Environmental and public health implications of water reuse: Antibiotics, antibiotic resistant bacteria, and antibiotic resistance genes. *Antibiotics*, *2*, 367-399.
- ISO 6341:2012** Water Quality - Determination of the Inhibition of the Mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) <https://www.iso.org/standard/54614.html>
- Ji, K., Kim, S., Han, S., Seo, J., Lee, S., Park, Y., Choi, K., Kho, Y.L., Kim, P.G. & Park, J. (2012).** Risk assessment of Chlortetracycline, Oxytetracycline, Sulfamethazine, Sulfathiazole, and Erythromycin in aquatic environment: Are the current environmental concentrations safe? *Ecotoxicology*, *21*, 2031-2050.
- Johansson, C.H., Janmar, L. & Backhaus, T. (2014).** Toxicity of Ciprofloxacin and Sulfamethoxazole to marine periphytic algae and bacteria. *Aquatic toxicology*, *156*, 248-258.
- Jung, J., Kim, Y., Kim, J., Jeong, D.H. & Choi, K. (2008).** Environmental levels of ultraviolet light potentiate the toxicity of Sulfonamide antibiotics in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*, *17*(1), 37-45.
- Kemper, N. (2008).** Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*, *8*, 1-13.
- Kraemer, S.A., Ramachandran, A. & Perron, G.G. (2019).** Antibiotic pollution in the environment: From microbial ecology to public policy. *Microorganisms*, *7*(6), 180.
- Kümmerer, K. & Henninger, A. (2003).** Promoting resistance by the emission of antibiotics from hospitals and households into effluent. *Clinical Microbiology and Infection*, *9* (12), 1203-1214.
- Kümmerer, K. (2009a).** Antibiotics in the aquatic environment-A review-Part I. *Chemosphere*, *75*(4), 417-34. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2008.11.086](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.11.086).
- Kümmerer, K. (2009b).** Antibiotics in the aquatic environment-A review-Part II. *Chemosphere*, *75*(4), 435-41. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2008.12.006](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.12.006)
- Lai, H.T., Hou, J.H., Su, C.I., Chen & C.L. (2009).** Effects of Chloramphenicol, Florfenicol, and Thiamphenicol on growth of algae *Chlorella pyrenoidosa*, *Isochrysis galbana*, and *Tetraselmis chui*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *72* (2), 329-334.
- Liu, M.K., Liu, Y.Y., Bao, D.D., Zhu, G., Yang, G.H., Geng, J.F. & Li, H.T. (2017).** Effective removal of Tetracycline antibiotics from water using hybrid carbon membranes. *Scientific Reports*, *7* (43717), 1-8.
- Martins, A.C., Pezoti, O., Cazetta, A.L., Bedin, K.C., Yamazaki, D.A., Bandoch, G.F., Asefa, T., Visentainer, J.V. & Almeida, V.C. (2015).** Removal of Tetracycline by NaOH-activated carbon produced from macadamia nut shells: Kinetic and equilibrium studies. *Chemical Engineering Journal*, *260*, 291-299.
- Microtox® Manual, (1992).** A Toxicity Testing Handbook. Microbics Corporation, Carlsbad, CA, USA, 5p.
- Migliore, L., Civitareale, C., Brambilla, G. & Dojmi Di Delupis, G. (1997).** Toxicity of several important agricultural antibiotics to *Artemia*. *Water Research*, *31*, 1801-1806.
- Robinson, A.A., Belden, J.B. & Lydy, M.J. (2005).** Toxicity of Fluoroquinolone antibiotics to aquatic organisms. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, *24*(2), 423-430.
- Santos, L.H.M.L.M., Araújo, A.N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C. & Montenegro,**

- M.C.B.S.M. (2010).** Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment. *Journal of Hazardous Materials*, **175**(1-3), 45-95. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2009.10.100](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.10.100).
- Sezener, M.G., Findik, A., Erguden, V.E., Akgoz, S., Gulhan, T. & Ciftci A. (2019).** The determination of antibiotic resistances and some virulence genes of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(2), 182-187.
- Sönmez, V.Z., & Sivri, N. (2016).** Interlaboratory precision of acute toxicity tests using reference toxicant formaldehyde. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **1**(3), 96-99.
- Sönmez, V. Z., & Sivri, N. (2020).** Change of Acute Toxicity of Dyestuff Wastewaters. *Polish Journal of Environmental Studies*, **29**(1), 491-498.
- Tongur, S. & Yildirim, R. (2015).** Acute toxicity assessment of antibiotics in water by luminiscence bacteria and *Lepidium sativum*. *Procedia Earth and Planetary Science*, **15**, 468-473.
- Tongur, S., Yıldız, S. & Yildirim, R. (2019).** Assessment of acute toxicity of some pharmaceuticals effects in aquatic environment by toxicity test methods. *Süleyman Demirel University Journal of Natural and Applied Sciences*, **23**, Special Issue, 71-75.
- Topal, M., Uslu G., Arslan Topal, E.I. & Öbek, E. (2015).** Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri Dergisi*, **31**(3), 121-127. (in Turkish).
- URL 1.** Study Report *Daphnia magna*, Acute Immobilization Test Effect of Linevol on the immobilization of *Daphnia magna* in closed vessels, Test guideline: OECD 202, GLP-Code of Testing Facility: SDA-004/4-20. <http://aciscience.com/docs/Linevol%20Daphnia%20OECD202.pdf>. (10 January 2020)
- URL 2.** Amoxicillin Wikipedia, <http://www.wikizeroo.com/index.php?q=aHR0cHM6Ly9lbi53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvQW1veGljaWxsaW4> (26 January 2020).
- URL 3.** Bir Bakışta Ekotoksosite Testleri, ALS Environmental. http://alsglobal.com.tr/website/var/assets/media-tr/pdf/ecotoxicity-tests-at-a-glance_2015_tur.pdf (in Turkish) (26 January 2020).
- URL 4.** Antibiotic Solubility Data Table, TOKU-E, <https://www.toku-e.com/Antibiotic-Solubility-Data-Table.aspx> (26 January 2020).
- URL 5.** OECD Guideline for Testing of Chemicals, *Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test. https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-202-daphnia-sp-acute-immobilisation-test_9789264069947-en#page1 (26 January 2020).
- Wang, H.Z., Luo, Y., Xu, W.Q., Zhou, Q.X., Tang, B.H. & Wang, Y.Y. (2008).** Ecotoxic effects of Tetracycline and Chlortetracycline on aquatic organisms. *Journal of Agro-Environment Science*, **4**, 048.
- Watkinson, A.J., Murby, E.J. & Costanzo, S.D. (2007).** Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling. *Water Research*, **41**(18), 4164-4176.
- Wollenberger, L., Halling-Sørensen, B. & Kusk, K.O. (2000).** Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere* **40**, 723-730.
- Yasser, E.N. & Adli, A. (2015).** Toxicity of single and mixtures of antibiotics to cyanobacteria. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, **5**(3), 1.
- Yıldırım, R. (2015).** *Acute toxicity determination of antibiotics by toxicity test methods*. Selçuk University, Science Institute Konya, Turkey, 91p.
- Zhu, X., Zhu, L., Chen, Y. & Tian, S. (2009).** Acute toxicities of six manufactured nanomaterial suspensions to *Daphnia magna*. *Journal of Nanoparticle Research*, **11**(1), 67-75.



Petrol Kirliliği Kaynaklı Uluslararası Tazminat Sistemi ve Mesuliyetin Paylaşılması

Bünyamin KAMAL* **Erhan ÇİLOĞLU**



Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Turgut Kıran Denizcilik Fakültesi, 53900 Rize, Türkiye

Geliş/Received: 13.02.2020

Kabul/Accepted: 01.05.2020

Atf yapmak için: Kamal, B. & Çiloğlu, E. (2020). Petrol Kirliliği Kaynaklı Uluslararası Tazminat Sistemi ve Mesuliyetin Paylaşılması. Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi, 5(2), 161-172.

How to cite: Kamal, B. & Çiloğlu, E. (2020). Petrol Pollution Sourced International Compensation System and Distribution of Liability. J. Anatolian Env. and Anim. Sciences, 5(2), 161-172.

*  <https://orcid.org/0000-0002-9885-114X>
 <https://orcid.org/0000-0002-9995-0377>

***Sorumlu yazarın:**

Bünyamin KAMAL
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Turgut
Kıran Denizcilik Fakültesi, 53900 Rize,
Türkiye.

✉: bunyamin.kamal@erdogan.edu.tr

Cep telefonu : +90 (507) 440 96 75

Faks : +90 (464) 311 10 72

Öz: Dünya enerji ihtiyacının ciddi bir kısmı petrolden tedarik edilmektedir. Farklı ulaştırma modlarıyla taşınsa da petrol ticareti için düşük maliyetli olduğu için en çok deniz ulaştırma modu kullanılmaktadır. Denizlerdeki yoğun petrol taşımacılığı çevresel riskleri tetiklemektedir ve petrol tankerlerinden kaynaklanan kazalar sadece kıyı devletlerindeki yapıları değil kirlenen alanlardaki insanların yaşamlarını da etkilemektedir. Bu sebebe binaen petrol kirliliğinden zarar görenlerin tazmin edilmesi bir gereklilik olarak ortaya çıkmaktadır. Tanker gemileri kaynaklı petrol kirliliği mağdurlarının tazmin edilmesi için bazı çabalar gösterilmiştir. Bu bağlamda 1969 Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi (CLC 1992) ve 1971 Fon Sözleşmesi (Fon 1971) geliştirilmiştir ve bunlar sonradan CLC 1992 ve Fon 1992 Sözleşmeleri ile ve son olarak üçüncü kademe tazminat sistemini teşkil eden Ek Fon Protokolü ile ikame edilmiştir. Bu düzenlemelerde, mesuliyet yükünün çoğunluğu Petrol Kirliliği Tazminat (IOPC) Fonlarına (1992 Fonu ve Ek Fon) katkıda bulunan petrol ithal eden şirketlerin omuzuna yüklenmiştir ve bu petrol ithal eden şirketler ve tanker gemisi malikleri arasında açık bir eşitsizliğe yol açmıştır. Bundan dolayı, petrol ithal eden şirketler lehine, gemi malikleri adına Uluslararası P&I Kulüpler Grubu gönüllü olarak STOPIA ve TOPIA adlı iki mekanizma geliştirmiştir. Bu çalışmada üç basamaklı tazminat sistemi, STOPIA ve TOPIA mekanizmaları analiz edilmiştir. STOPIA ve TOPIA'nın ilk on yıllık gözden geçirme periyodu mesuliyetin dağıtılması hususunda değerlendirilmiştir ve görülmektedir ki gelinen durum itibari ile tanker malikleri ile petrol alıcıları arasında mesuliyetin paylaşılması hususunda bir dengeye ulaşıldığı görülmektedir.

Anahtar kelimeler: CLC 92, fund 92, petrol kirliliği tazmini, STOPIA, TOPIA.

Petrol Pollution Sourced International Compensation System and Distribution of Liability

Abstract: A significant part of the world's energy need are supplied from oil. Although it is transported with different modes of transportation, marine transportation mode is the most used for oil trade due to its low cost. Intense oil transportation in the seas triggers environmental risks and accidents stemming from oil tankers affect not only marine environment but also structures in the coastal states and people living in the polluted areas. For this reason, compensation of those who suffer from this oil pollution becomes a necessity. There have been some efforts to compensate the victims of tanker vessel sourced oil pollution. In this context, 1969 Civil Liability Convention and 1971 Fund Convention was developed and later on these were replaced with 1992 Civil Liability Convention, 1992 Fund Convention and finally Supplementary Protocol 2003 constituting third-tier compensation system. In these regulations, majority of the liability burden was put on the shoulder of the petrol importing companies by contributing to IOPC Funds (Fund 92 and Supplementary Fund) and this led to an apparent inequality between shipowners and petrol importing companies. Due to this, on behalf of the shipowners, International Group of P&I Clubs voluntarily developed two mechanisms called STOPIA and TOPIA in order to balance this situation for petrol receiving companies' favor. In this study, third tier compensation scheme, STOPIA and TOPIA mechanisms have been analyzed. First annual review of STOPIA and TOPIA has been evaluated with regard to liability distribution and it seems that a balance has been reached so far between tanker owners and petrol receivers regarding sharing of liability.

***Corresponding author's:**

Bünyamin KAMAL
Recep Tayyip Erdoğan University, Turgut
Kıran Maritime of Faculty, 53900 Rize,
Türkiye.

✉: bunyamin.kamal@erdogan.edu.tr

Cep telefonu : +90 (507) 440 96 75

Faks : +90 (464) 311 10 72

Keywords: CLC 92, fund 92, oil pollution compensation, STOPIA, TOPIA

GİRİŞ

1967 yılında vuku bulan ve büyük çaplı kirlenmeye neden olan Torrey Canyon kazası akabinde ortaya çıkan tablonun neticesi olarak uluslararası alanda petrol kirliliğinden zarar gören tarafların tazmin edilmesi meselesi hususunda düzenleme ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Bu bağlamda o dönem ismi IMCO olan uluslararası denizcilik örgütü tarafından (IMO) Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi (CLC 69) şekillendirilmiştir (Küçük yıldız, 2014). Bu sözleşme ile petrol kirliliğinden zarar görenlerin mağduriyet miktarlarını tazmin etmesi için donatanlar mesul tutulmuştur ve paralel olarak donatanın mali gücünü teminat altına alabilmek için zorunlu sigorta yaptırması da öngörülmüştür (Acar, 2009).

CLC 69 sözleşmesi petrol kirliliği kaynaklı zarar görenlerin tazmin edilebilmesi için ciddi bir girişim olsa da bu sözleşme daha yürürlüğe girmeden mahkemelerin yetki sınırlarının tespiti, zararların ödenmesi ile alakalı hususların yeteri kadar netleştirilemediği ortaya çıkmıştır. Ayrıca IMO konferanslarında bazı ülke temsilcileri tarafından donatanların öngöremediği durumlar karşısında doğrudan mesul tutulmaları kabul görmemekle beraber bazı ülke temsilcileri de donatanların mesuliyet limitlerinin daha da artırılması gerektiğini savunmuşlardır. Bu durum açıkça taşıyan pozisyonunda olan ülkeler ile daha çok taşıyan tarafında olan ülkelerin menfaatlerinin dengede olmamasından kaynaklı olarak Hukuki Sorumluluk Sözleşmesinin tadil edilmesi ihtiyacı hâsıl olmuştur (Küçük yıldız, 2014).

Deniz taşımacılığı endüstrisini ağır sorumluluk altına sokan bu sorumluluk rejimini takiben 1971 Fon Sözleşmesi (Fund 71) şekillendirilmiştir. Fon Sözleşmesi vesilesi ile petrol kirliliğinden zarar gören tarafların tazmin edilmesi hususunda tamamlayıcı bir fonksiyon icra edecek olan bir fon (71 Fonu) kurulması kararlaştırılmıştır. Bu fona yapılacak olan katkıların petrol ithal eden şirketler tarafından finanse edilmesi öngörülmüştür. CLC 69 ve Fon 71 Sözleşmeleri bağlamında petrol kirliliği mağdurlarının yükünün donatanlar ve petrol ithal eden şirketler arasında eşit olarak dağıtılması öngörülmüş, 2 basamaklı bir sorumluluk sistemi teşkil edilmiştir (Acar, 2009). Böylece bir petrol kirliliği olayında hâsıl olan tazminat taleplerinden evvela geminin maliki mesul iken, malikin mesuliyetini aşan tazminat taleplerinin ortaya çıkması halinde 71 Fon Sözleşmesi bağlamında kurulan Uluslararası Petrol Kirliliği Tazmin Fonu (IOPC Fund) devreye girmektedir (Küçük yıldız, 2014). Ayrıca sözleşmelere taraf devlet sayısının artmasıyla paylaşılması gereken yükün o denli azalacağı düşünülmüştür (Acar, 2009).

1978 yılında meydana gelen Amaco Cadiz kazasında Uluslararası Fon'un yeterli olmadığı ortaya çıkmış ve mesuliyet üst sınırlarının yükseltilmesi hususu gündeme gelmiştir. Buna paralel olarak 1984 yılında CLC

69 ve Fon 1971 Sözleşmeleri için yeni protokoller kabul edilmiş ve bu vesile ile mesuliyet üst sınırları yukarı çekilmiştir. Fakat protokoller yürürlüğe girme açısından başarısız olmuştur zira daha çok taşıyan ülke pozisyonunda olan ve kirlilik tazmini fonuna en çok katkıda bulunan ABD protokollerle mesuliyet miktarlarının yükseltilmesine itiraz etmiş ve donatanların sınırlı mesuliyet yerine sınırsız mesuliyetini savunmuştur. Ayrıca fona en çok katkı yapan devletlerden biri olan Japonya da katkı miktarının çok fazla artacağı çekincesiyle Protokollerini onaylamayacağını deklare etmiştir (Abdullayev, 2003). Böylece protokoller yürürlüğe girmemiş ve ABD uluslararası tazmin sisteminden ayrılıp kendi Petrol Kirliliği Yasasını (OPA 90) çıkartarak yeni bir rejim ortaya koymuştur (Küçük yıldız, 2014). Burada ABD'nin uluslararası fondan tamamen ayrılmasını ve kendi tazmin mekanizmasını kurması hususunu tetikleyen olay ise yaşadığı en büyük kazalardan biri olan ve 1989 yılında meydana gelen Exxon Valdez kazasıdır (Abdullayev, 2003).

1991 yılında meydana gelen Haven kazası ile tazminat rejiminde tereddütsüz yenilik yapılması fikri benimsenmekle beraber ABD'nin katılımı olmadan 1992 protokollerini kabul edilmiştir. Burada aslında 1984 Protokollerinde yükseltilen mesuliyet miktarları değiştirilmemiş fakat yürürlüğe girme koşullarında değişikliğe gidilmiş ve böylece protokoller 1996 yılında yürürlüğe girmiştir (Abdullayev, 2003). Bu yeni protokollerle 16 Mayıs 1998 tarihinden itibaren yeni rejim olarak sayılan 1992 Protokollerine akit olan devletler CLC 69 ve Fon 71 Sözleşmelerinden ayrılmış sayılmıştır ve feshedilen bu sözleşmelerin yerine getirilen protokoller Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi (CLC 1992) ve 1992 Fon Sözleşmesi (FUND 1992) olarak anılmaktadır (Küçük yıldız, 2014).

Petrol kirliliği kaynaklı tazminat miktarlarının artmasına binaen 2005 yılında Ek Fon Protokolü 2003 devreye girmiştir. Burada tazminat mesuliyetinin ciddi bir kısmını üstlenen petrol alıcılarının yükünü dengeleme adına 2006 yılında STOPIA ve TOPIA mekanizmaları devreye alınmıştır. Bu çalışmada belirtilen hususlar sırasıyla incelenmiştir ve aradan geçen süre boyunca tazminat mesuliyetlerinin taraflar arasında dengelenmesi hususunda arzu edilen gayeye ulaşıp ulaşılmadığının tespiti amacıyla binaen STOPIA ile TOPIA sonrası dönem ve gözden geçirme periyodu ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

1. Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi (CLC 1992) ve 1992 Fon Sözleşmesi (FUND 1992): 1992 Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi ve 1992 Fon Sözleşmelerinin temel gayesi uluslararası düzeyde petrol kirlenmesinden mağdur olanların zararlarının mümkün mertebe mahkemelere gidilmeksizin ve bütün alacaklı olanlara adil davranılarak hızlı bir şekilde tazmin edilmelerini temin etmektir. Bu bağlamda kirlilik mağdurları için CLC 92 birinci kademe

güvenceyi ve 92 Fon Sözleşmesi ikinci kademe güvenceyi teşkil etmektedir (Demir, 2012). Petrol kirliliği karşısında zarar gören tarafların tazmin miktarları evvela CLC 92 bağlamında hususen bu sözleşmeye binaen zorunlu hale getirilen sigortadan karşılanmaktadır. Mesuliyet miktarlarının CLC 92’de yer alan limitleri aşması ve bu sözleşme hükümlerine göre tazmin edilememesi durumunda Fon 1992 Sözleşmesi devreye girerek belirtilen sınırlar dâhilinde kirlilik mağdurlarına tazminat ödemesi yapılmaktadır (Demir, 2012).

1992 yılında getirilen Protokollerle dizayn edilen yeni sistemde Fon Sözleşmesi ve Sorumluluk arasındaki ilişki dikkate alınarak olay, gemi, gemi maliki, petrol, şahıs, koruma tedbirleri gibi kavramlar her iki sözleşmede de aynı manaya gelecek şekilde düzenlenmiştir (Abdullayev, 2003).

30 Mayıs 1996 yılında yürürlüğe giren bu sözleşmeler dünya çapında kabul görmüş ve denize kıyısı olan bütün AB ülkeleri bu sözleşmelere taraf olmuştur. Türkiye ise bu sözleşmelere Avrupa Birliği uyum bağlamında 9/5/2001 tarihinde taraf olmuştur ve 24397 sayılı Resmi Gazete’de yayımlanarak yürürlüğe girmiştir (Demir, 2012).

1.1. Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi (CLC 1992):

1992 Hukuki Sorumluluk Sözleşmesi 2 no’lu madde de belirtildiği üzere (a) akit devletlerden birinin karasuları da dâhil olmak üzere kendi ülkesinde, uluslararası hukuka göre belirlenmiş veyahut tespit edilmemiş ise bu devlet tarafından uluslararası hukuk temeline göre belirlenmiş münhasır ekonomik bölgesinde veyahut bitişik bölgesindeki sebep olunan kirlilik zararına (b) nerede alındığına bakılmaksızın böyle bir zararı minimize etmek veya önlemek için alınan önleyici tedbirlere uygulanmaktadır (IOPC, 2011).

CLC 92 ile donatanın mesuliyet sınırları genişletilmiş ve belirli bir meblağ ile sınırlandırılabilir. Sözleşmenin 5. Maddesinde belirtildiği üzere, 5000 tonaj birimini geçmeyen gemiler için 3 milyon Özel Çekme Hakkı (SDR) ile daha tonajlı gemiler için bu meblağa ton başına 420 SDR eklenerek gemi malikinin mesuliyeti sınırlanabilir. Öte yandan malikin mesuliyeti hiçbir halde 59.7 milyon SDR’yi geçemez. Bu sınırlama hakkında istifa etmek isteyen gemi malikinin CLC 92 Sözleşmesine taraf olan ve konvansiyonun hükümlerine göre yetkisi bulunan bir devlet mahkemesinde bir sınırlama fonu kurması gerekmektedir (Acar, 2009).

Bu sınırlar artış gösteren kazalar ve yaşanan tecrübeler doğrultusunda 2000 yılında zımnî kabul (tacit acceptance) yöntemiyle değiştirilmiş ve 1 Kasım 2003 tarihinde bu değişiklik yürürlüğe girmiştir. Yapılan bu değişiklik ile mesuliyet miktarları % 50.37 oranında yükseltilmiş ve 5000 grostonu aşmayan gemiler için 4.51 milyon SDR olurken 5000 ile 140.000 groston arasındaki her bir gemi için 3 milyon SDR’ye ilave olarak her bir ek tonaj için 631 SDR ve 140.000 grostonu aşan gemiler için 89.77

milyon SDR olarak güncellenmiştir. Öte yandan hâsıl olan kirliliğin malik tarafından zarar vermek kastıyla veyahut muhtemelen zarara sebebiyet verebileceğini bilerek ve dikkatsizce malikin yaptığı kişisel bir hareketten veyahut ihmalden kaynaklandığının ispatı durumunda, geminin maliki mesuliyetini sınırlama hakkından istifa edemeyecektir. Ayrıca belirtilmelidir ki CLC 69 Sözleşmesinde gemilerin net tonu hesaba katılırken CLC 92’de gemilerin grostonu hesaba katılmaktadır. Eğer ki kirliliğin oluşmasında malikin kusuru olmasa bile, malik kendi gemisinden sızan veya dökülen petrolün sebep olduğu zararların tazmini için ödeme yapmakla mesuldür (Küçükıldız, 2014).

Öte yandan ispat yükümlülüğü gemi malikine ait olmak üzere, sınırlı olarak bazı durumlarda malike mesuliyetten kurtulma imkânı verilmiştir. Aşağıda belirtilen kirlenme zararları için gemi malikinin hiçbir mesuliyeti yoktur.

- a) Savaş, iç savaş, ayaklanma, beklenmeyen ve önlenemeyen tabiat hadiselerinde,
- b) Zararın tamamen bir üçüncü şahsın zarara sebebiyet verme niyetiyle yaptığı bir hareket veyahut hareketsizliğin sonucu ise,
- c) İlgili devletin seyir yardımcıları ve fenerlerin bakım-tutum görevindeki bir ihmalin veyahut başka yanlış hareketinin sonucu ise.

Ayrıca, gemi maliki zarar gören tarafın kasıtlı olarak ve bilerek bu zarara tamamen veyahut kısmen fiillerinin veyahut ihmalinin sebep olduğunu ispatlaması durumunda, gemi maliki zarar gören tarafa karşı sorumluluktan tamamen veyahut kısmen kurtulabilecektir (Acar, 2009).

1.1.1. Zorunlu Sigorta: CLC 92 madde 7 (1)’de belirtildiği üzere sözleşmeye akit bir devletin siciline kayıtlı ve 2000 tondan fazla petrolü kargo olarak taşıyan bir geminin maliki bu konvansiyonun madde 5 (1)’de belirtilen mesuliyet miktarını karşılayacak miktarda sigortaya sahip olmak zorunda veyahut banka garantisi/uluslararası tazminat fonu tarafından sağlanan sertifika gibi diğer finansal güvenceyi bulundurmakla mükelleftir (IOPC, 2011). Buna binaen sözleşmeye taraf devletler kendi sicillerine kayıtlı gemiler için belirtilen sigortaya sahip olan veyahut finansal güvenceyi sunan gemiler için CLC sertifikaları düzenlerler ve kendi sularına giriş-çıkış yapan gemilerin de böyle bir güvenceye sahip olup olmadıklarını denetlerler. Zira sözleşmeye akit bir devletin siciline tescil edilmiş olan ve 2000 ton üzeri petrol yükü taşıyan bir geminin aktif bir P&I sigortasını gösteren CLC sertifikası yoksa o taraf devletçe bu geminin ticaretine izin verilmez.

Zorunlu sigortanın birçok faydası vardır. Örneğin zorunlu sigorta ihmalkâr bir gemi malikinin tek gemilik şirket (one ship company) teşkil ederek şirketin mal

varlıklarının değerini düşük tutarak mesuliyetten kaçmasını önlemektedir (Billah, 2011).

Tanker kazaları sonucu hâsıl olan tazminat taleplerinin büyük çoğunluğu IOPC Fonu'nun dahil olmadan IG kulüpleri tarafından elleçlenmektedir. Toplam tanker tonajının yaklaşık % 90'ını sigortalayan 13 büyük Koruma ve Tazminat Kulübünün (P&I Kulüp) oluşturduğu Uluslararası Koruma ve Tazminat Kulüpleri Grubu (IG) bünyesindeki kulüpler müşterileri olan gemi maliklerine sunduğu mavi kart (blue card) vesilesi ile hasar tazminat talebinde bulunanların taleplerini teminat altına almakta ve bu bağlamda IG kulüpleri yıllık yaklaşık olarak 7000 mavi kart (blue card) hazırlamaktadır (Oil spills India, 2018). Bu hususta dikkat edilmesi gereken bir husus ise CLC 92 madde 7 (2) (e) fıkrasında belirtildiği üzere sertifikanın geçerlilik periyodu sigorta veyahut banka teminat mektubunun geçerlilik tarihinden uzun olmamalıdır (IOPC, 2011).

1.1. 1992 Fon Sözleşmesi (FUND 1992): 1992 Fon Sözleşmesi ile CLC 92'nin yetersiz kaldığı çapta meydana gelen kirlilik zararlarının tazmin edilmesi amaçlanmaktadır ve uygulama alanı CLC 92 Sözleşmesi ile aynıdır. Fon Sözleşmesine göre herhangi bir akit devlette bir yıl içerisinde toplamda 150.000 tondan fazla petrol ithal eden şahısların Fon'a katkıda bulunması gerekmektedir ve burada "şahıs" terimi netliğe kavuşturulmuş ve ortaklıkların veyahut yardımcı şirketlerin de şahıs olduğu özellikle belirtilmiştir. Zira bu vesile ile taraf devletteki tek bir şirketin farklı farklı isimler adı altında faaliyette bulunarak katkıda bulunması gereken asgari tonajı geçmeme girişiminin de önüne geçilmiş olmaktadır (Küçükyıldız, 2014). Fon Sözleşmesine akit bir devletteki petrol alıcısı olan petrol şirketlerinin aldığı petrol miktarları şirket başına belirtilen miktara ulaşmasa bile bu devlet herhangi bir kirlilik durumundan Fon'dan tazminat almaya devam edecektir. Bu bağlamda 2009 yılında Fon Sözleşmesine taraf olan 104 devletten 25 tanesi Fona herhangi bir katkıda bulunmamış iken 2017 yılında 42 taraf devletten katkı petrolü alınamamıştır (IOPC, 2018b; Billah, 2011). Bu ülkeler genel olarak nispeten ekonomisi küçük gelişmekte olan ülkelerdir.

Fon Sözleşmesi aşağıda belirtilen hallerden biri sebebiyle tazmin edilememiş zararların tazminini öngörmektedir.

- a) Gemi maliki CLC 92 Sözleşmesindeki mesuliyetten kurtulma sebeplerinden istifade etmişse veya
- b) Gemi maliki CLC 92 bağlamında tazmin etmesi gereken miktarı ifa etmede mali açıdan yetersiz ise veyahut kulüp sigortası tazminat taleplerini kapsamamakta ya da yetersiz ise, veya
- c) Kirlenme zararından hâsıl olan tazminat meblağı malikin CLC 92'deki sınırlı mesuliyet limitlerini aşılırsa Fon Sözleşmesi bağlamında kurulan Fon devreye girmektedir.

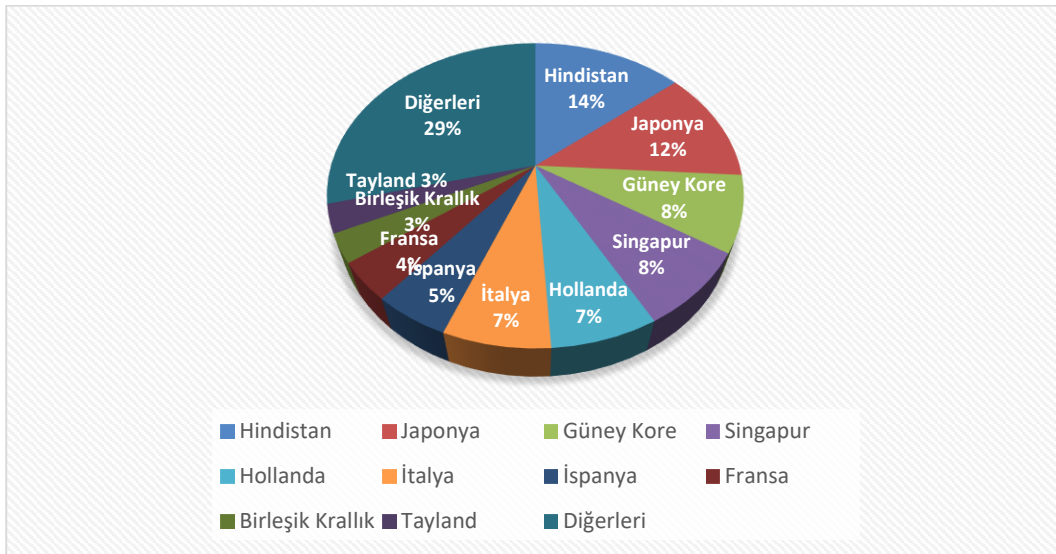
Öte yandan kirlenme zararı Fon 1992 Sözleşmesi'ne taraf olmayan bir devlette vuku bulmuşsa veyahut tazminat talebinde bulunan taraf kirlenme zararının bir veyahut birden fazla geminin karıştığı bir olayın neticesi olduğunu ispatlayamaz ise Fon ödeme yapmamaktadır. Ayrıca Fon bir savaş, iç savaş, ayaklanma sonucu veya bir savaş gemisi ya da ticaret gemisi olmayan bir devlet gemisinden sızan petrolün kirlenme zararına sebep olduğunu ispatlarsa tazminat ödemesi yapmaktan kurtulur. Buna ek olarak, kirlenme hadisesinden zarar gören tarafın kendi kusuruyla zarara katkıda bulunması durumunda CLC 92'de olduğu gibi Fon'un da bu tarafa karşı sorumluluktan kurtulma imkânı mevcuttur (Acar, 2009).

CLC 92 ile Fon 92 Sözleşmeleri kargo olarak petrol taşımak için inşa edilmiş veyahut sonradan buna dönüştürülmüş bir tanker gemisinden dökülen ve kalıcı kirliliğe sebebiyet veren petrol minerallerinin (persistent oil) dâhil olduğu olayları kapsamaktadır. Kalıcı kirliliğe sebep olan petrol türevi çeşitleri olarak ham petrol, fuel oil, ağır dizel yağı, gres yağı gibi yavaş dağılan ve temizleme gerektiren petrol mineralleri belirtilebilir. Belirtilmelidir ki kerosene, gazolin ve hafif dizel yağı gibi dayanıklı olmayan petrol mineralleri dökülmesine binaen oluşan zararlar sözleşmeler kapsamında tazmin edilmez. Zira bunlar döküldüğü zaman hızlıca buharlaşır ve temizleme faaliyeti gerektirmezler (Keçeli vd., 2013; Küçükyıldız, 2014).

Diğer taraftan bu belirtilen kalıcı kirliliğe sebebiyet veren petrol mineralleri dolayısıyla IOPC Fon'u tarafından kirlenme zararı (a) petrolün gemiden kaçması veyahut boşaltılmasının sonucu oluşan hasarlar (b) önleyici tedbirlerin maliyetleri ve önleyici tedbirlerin sebebiyet verdiği hasarlar olarak belirtilmektedir. Buna paralel olarak IOPC Fonlarının bugüne kadar kabul edilebilir gördüğü en mühim kirlilik zararları olarak mülkiyet zararları, zarara bağlı kayıp, saf ekonomik kayıp ve çevre zararları ile kirlilik zararını olay olduktan sonra önlemeye matuf veyahut etkisini minimize etmeye yönelik herhangi biri tarafından alınan makul bir tedbirler belirtilebilir. Burada mülkiyet zararlarından kasıt petrol bulaşan balıkçı ağları, yatlar veyahut iskelelerin temizlik, tamir veyahut yenilenme maliyetleri ifade edilmekte iken zarara bağlı kayıp ise petrolün kirlettiği mülkü temizlenene kadar maruz kaldığı kazanç kaybı olarak ifade edilmektedir. Saf ekonomik kayıp olarak ise eğer ki kirlilik olmasaydı umulan kazancı kaybı olarak ifade edilmektedir ve müşteri kaybeden otelin, plajın veyahut restoranın sahipleri ile tekneleri ve ağlarına petrol bulaşmasa bile balıkların kaçması sonucu avlanamayan balıkçıların maruz kaldığı kazanç kaybı bu bağlamda değerlendirilir. Çevre zararları bağlamında kabul edilebilir bulunan hasar tazminat talepleri olarak tahrip olan çevrenin eski haline getirilmesi için alınan önlemlerin bedelleri bağlamında sunulan talepler belirtilebilir (Acar, 2009)

Fon 92 Sözleşmesine göre Fon tarafından kaza başına tazminat talepleri için ödenecek meblağ 135 milyon SDR'dir ve buna gemi malikinin CLC 92 bağlamında ödemesi gereken meblağ dâhildir. Bu bağlamda Fon'un mesul tutulduğu miktar hesaplanırken donatanın veyahut onun adına P&I kulübünün ödediği miktar 135 milyon SDR'den düşülür. Öte yandan belirtilmelidir ki istisnai olarak Fon'a katkıda bulunan 3 taraf devletin ülkesinde bir önceki yıl ilgili şahıslar tarafından yıllık petrol ithalatı 600 milyon tona eşit ya da üzerine çıkması durumunda 135 milyon SDR olan tazminat üst sınırı 200 milyon SDR'ye çıkartılmıştır (Küçük yıldız, 2014).

CLC 92'de olduğu gibi 10 Ekim 2000 tarihinde kabul edilen ve 1 Kasım 2003 tarihinde yürürlüğe giren Protokol ile Fon'un sağladığı tazminat üst sınırı % 50.37 oranında yükseltilmiştir. Bu durumda Fon tarafından ödenecek tazminat üst sınırı 203 milyon SDR'ye yükseltilmiştir. Fon'a katkı yapan 3 taraf devletteki şahısların yıllık 600 milyon ton üzeri petrol alımı durumunda ise belirtilen üst sınır yaklaşık 300 milyon SDR'ye yükseltilmiştir.



Şekil 1. 2017 Yılında 1992 Fonu Tarafından Üye Devletlerden Alınan Katkı Petrolü (IOPC, 2018(b)).
Figure 1. Contributing Oil Received in 2017 by Member States of 1992 Fund (IOPC, 2018(b)).

IOPC Fon verilerine göre 2020 yılı itibarıyla Fon Sözleşmesi'ne taraf devlet sayısı Türkiye dâhil 115'dir (IOPC, 2020). Normal şartlarda CLC 92'ye taraf olan bir devlet 1992 Fon Sözleşmesine de taraf olmaktadır fakat belirtilmelidir ki böyle bir zorunlulukları yoktur ve 2009 rakamlarına göre 18 devlet CLC 92' taraf olup 92 Fon Sözleşmesi'ne taraf olmamıştır (Acar, 2009). IOPC Fonu 2018 yıllık raporuna göre kuruluş tarihi olan 1978 Ekim ayından itibaren IOPC Fonları 150 petrol kazası olayına müdahil olmuştur. Devreye girdiği 1978 yılından beri IOPC Fonları petrol kirliliği mağdurlarına 684 milyon pound ödeme yapmıştır ve bu miktarın 331 milyon poundluk kısmı 1971 Fon'u bağlamında yapılmıştır (IOPC, 2018(b)). Aşağıdaki Şekil 1'de görüldüğü üzere 2017 yılı rakamlarına göre 1992 Fon'una en çok katkıda bulunan devlet % 14'lük bir yüzde ile Hindistan'dır ve bunu Japonya ve Güney Kore takip etmektedir ve paralel olarak devletlerin Fon'a katkıda buldukları petrol miktarları Tablo 1'de gösterilmektedir.

Tablo 1. Taraf Devletlerin 2017 Yılında Katkıda Buldukları Katkı Petrolü*

Üye Devlet	2017 Yılında Alınan Katkı Petrolü Miktarı (ton)	Yüzdesi
Hindistan	218.709.791	13.84 %
Japonya	196.693.667	12.45 %
Güney Kore	132.489.698	8.39 %
Singapur	122.208.460	7.74 %
İtalya	114.873.264	7.27 %
Hollanda	104.841.136	6.64 %
İspanya	72.020.982	4.56 %
Fransa	64.330.030	4.07 %
Birleşik Krallık	53.322.219	3.38 %
Tayland	52.436.479	3.32 %
Kanada	36.076.678	2.28 %
Malezya	30.120.554	1.91 %
Yunanistan	29.891.033	1.89 %
Türkiye	28.279.675	1.79 %
Almanya	22.779.972	1.44 %
Birleşik Arap Emirlikleri	22.142.210	1.40 %

(IOPC, 2018(b))*

Japonya'da 1997 yılında meydana gelen Nakhoda kazası, Fransa'da 1999 yılında meydana gelen Erika ve İspanya'da 2002 yılında meydana gelen Prestige gibi büyük çaplı kazalardan sonra petrol kirliliğinden kaynaklanan zararların tazmini edilmesi hususunda yeni arayışların ortaya çıkmasına sebebiyet vermiştir. Çevre hususunda sivil toplum örgütleri ve bu kazalardan etkilenen devletlerin ilgili İdareleri 1 Kasım 2003 tarihinde üst limitleri zaten arttırılmış olan 92 Sorumluluk Sözleşmesi ve 92 Fon Sözleşmesindeki üst limitlerin daha da arttırılmasını talep etmiş ve bu hususta daha radikal kararlar alınması önerilmiştir (Küçüküydüz, 2014). Örnek olarak çevre zararlarının tazminine ek olarak çevre zararlarının bilimsel metotlarla saptanması hususunda yapılan giderlerin de tazminat bağlamında değerlendirilmesi savunulmuştur (IOPC, 2003).

Uluslararası Denizcilik Örgütü (IMO) öncülüğünde 16 Mayıs 2003 tarihinde Londra'da gerçekleştirilen diplomatik Konferans'ta 1992 Fon Sözleşmesi'ne ilişkin olarak yeni bir Protokol (Supplementary Fund Protocol) kabul edilmiş ve bu bağlamda Petrol Kirliliği Ek Tazminat Fonu'nun (Supplementary Fund) tesis edilmesi kararlaştırılmıştır. Bu Protokol gereğince, Petrol Kirliliği Ek Tazminat Fonu'ndan tahsil edilebilecek tazminat miktarı, 1992 Sorumluluk ve Fon Sözleşmeleri bağlamında ödenecek meblağlar dâhil, 750 milyon Özel Çekme Hakkı (SDR) olarak öngörülmüştür (Abdullayev, 2003). Bu rakam 27 Ocak 2020 tarihi itibarıyla 6.105.000.000 TL'ye tekabül etmektedir (IMF, 2020). Bu vesileyle EK Fon Protokolü'nün temel gayesi CLC 92 ve Fund 92 Sözleşmelerinin yetmediği yerde mağdurların tam ve zamanında tazminatlarının ödenmesini temin etmek ve böylece mezkûr sözleşmeleri tamamlamaktır. Bu bağlamda denilebilir ki Ek Fon, petrol kirliliğinin tazmini hususunda üçüncü kademeyi teşkil etmektedir ve 3 Mart 2005 tarihinde yürürlüğe girmiştir (Demir, 2012).

IOPC Fon verilerine göre 2020 yılı itibarıyla Ek Fon Protokolü'ne taraf devlet sayısı Türkiye dâhil 32'dir (IOPC, 2020).

1992 Fon Sözleşmesine paralel olarak Ek Fon'a yapılacak katkılar petrol ithal eden firmalar tarafından bir önceki takvim yılında alınan petrol miktarı üzerinden hesaplanmaktadır. Bu hususta Protokol'e taraf olan devletler Fon'a her yıl 150.000 ton üzeri petrol ithal eden firmaların listesini bildirmekte ve bu firmalar da Fon tarafından hesaplanan katkı miktarını ödemektedirler. 2019 yılı itibarıyla 1992 Fon Sözleşmesine katkıda bulunan petrol alıcısı olan şahıs sayısı yaklaşık 440 civarındadır ve bunların yaklaşık 200 tanesi üçüncü kademe tazminat mekanizmasını teşkil eden Ek Fon'a katkıda bulunmaktadır (2018(b)).

Ayrıca belirtilmelidir ki; Ek Fon'a daha yüksek miktarda kaynak sağlayabilmek için Ek Fon Protokolü madde 14'te ifade edildiği üzere Protokole taraf her devlette yıllık minimum 1 milyon ton petrol ithal edildiği kabul

edilmektedir. 1 milyon ton ile Fon'a sunulan miktar arasındaki katkı meblağının ödenmesi hususunda ilgili devlet sorumlu tutulmaktadır (2018(a)). Örneğin IOPC Fon'u 2018 yıllık raporuna bakıldığında Macaristan, Slovenya, Slovakya gibi devletlerde mukim petrol alıcıların toplam alım miktarı 1 milyon tona ulaşmadığından dolayı aradaki farkı bu ülke idarelerinin ödediği sonucuna ulaşılabilir (IOPC, 2018(b)). Öte yandan Ek Fon'a taraf bir devletin orantısız olarak büyük meblağlarda katkıda bulunmasını engellemek için Protokol madde 18/1'de bir sınırlandırma hükmü belirtilmiştir ve bu hükme göre tek bir akit devletin yapacağı yıllık katkı miktarı, akit devletler tarafından yapılan yıllık toplam katkı miktarının % 20'sini geçemez (IOPC, 2018(a)). Eğer % 20'yi geçer ise madde 18/2'de belirtildiği gibi ilgili ülkedeki petrol ithal eden firmaların yaptığı katkılar % 20'ye ulaşıncaya kadar orantılı olarak düşürülür (IOPC, 2018(a)). Aşağıdaki Tablo 2'de görüleceği üzere Ek Fon'a en çok katkıda bulunan devlet yaklaşık % 20'lik bir oran ile Japonya'dır ve Ek Fon'a katılım oranı arttıkça protokole taraf her bir devletin yaptığı katkı oranı da kademeli olarak azalacaktır.

Tablo 2. Ek Fon'a Taraf Bazı Devletlerde 2017 Yılında Alınan Katkı Petrolü*.

Table 2. Contributing Oil Received by Some Supplementary Fund Member States in 2017*

Üye Devlet	2017 Yılında Alınan Katkı Petrolü	Yüzde %
Japonya	196.693.667	19.85 %
Güney Kore	132.489.698	13.37 %
İtalya	114.873.264	11.59 %
Hollanda	104.841.136	10.58 %
İspanya	72.020.982	7.27 %
Fransa	64.330.030	6.49 %
Birleşik Krallık	53.322.219	5.38 %
Kanada	36.076.678	3.64 %
Yunanistan	29.891.033	3.02 %
Türkiye	28.279.675	2.85 %
Almanya	22.779.972	2.30 %
İsveç	21.539.869	2.17 %

(IOPC, 2018(b))*

3. Petrol Kirliliği Tazmininde Yeni Düzen: STOPIA ve TOPIA: Tablo 3'den de görüleceği üzere petrol kirliliği tazmin sisteminde günümüzde geçerli olan CLC 92, FUND 92 ve Ek Fon Protokolü'nden müteşekkil 3 kademeli sisteme göre kirlilik mağdurları için 750 milyon SDR yani Özel Çekme Hakkı'na kadar tazminat miktarı sağlanabilmektedir. Fakat aşağıdaki Tablo 3'de açıkça görüldüğü üzere kirlilik mağdurların tazmininde gelinen noktada sorumluluk adil dağılmamaktadır ve makas petrol alıcı şirketleri aleyhine ciddi bir şekilde açılmıştır. Örneğin, tonaj olarak 5000 grostondan küçük bir tanker geminin maliki yol açtığı kirlilik sebebiyle maksimum 4.510 milyon SDR ile mesul tutulabilecek iken yol açtığı kirliliğin boyutuna göre petrol ithalatçıları tarafından finanse edilen 92 Fonu 203 milyon SDR'ye kadar ve eğer ki tazminat miktarlarının bu meblağı aşması durumunda yine petrol

alıcısı firmalar tarafından finanse edilen Ek Fon 750 milyon SDR'ye kadar mesul tutulabilmektedir. Bu rakamlara gemi malikinin mesul tutulduğu miktarlar dâhildir. Her durumda bir geminin malikinin mesul tutulabileceği meblağ maksimum olarak yaklaşık 90 milyon SDR olmakta iken bu petrol alıcıları açısından 750 milyon SDR (buna tanker maliki mesuliyeti dâhil) olmaktadır.

Tablo 3. Petrol Kirliliği Tazmin Sisteminde Maksimum Tazmin Değerleri (Milyon SDR).

Table 3. Maximum Compensation Values in Oil Pollution Indemnification System (Million SDR)*

Tanker GT	CLC92 (2003 sonrası)	Fon 92 (2003 sonrası)	2003 Ek Fon
5.000	4.510	203	750
10.000	7.665	203	750
50.000	32.905	203	750
100.000	64.455	203	750
140.000	89.770	203	750
250.000	89.770	203	750

(Küçükylıdız, 2014)*

Mesuliyetin paylaşılması hususunda Ek Fon Protokolü ile aleyhine gelişen bu duruma binaen petrol alıcısı firmalar adına Petrol Şirketleri Uluslararası Denizcilik Forumu (OCIMF) tarafından IMO'ya bir değerlendirme arz edilmiştir. Bu değerlendirmede OCIMF kirlilik tazminatı hususunda getirilen konvansiyonları ve Ek Fon'u desteklediğini fakat Ek Fon'u geçici bir çözüm şekli gördüğünü ifade etmektedir. Bu bağlamda konvansiyonlarda sınırlama hakkının yitirilmesi ve sorumluluk gibi hususlarda değişiklikler yapılması gerektiğini savunmaktadır. Öte yandan aynı süreçte Uluslararası P&I Kulüpleri Grubu (IG) gemi malikleri adına IMO'ya bir değerlendirme sunmuş ve mevcut sistemin başarı ile işlediğini ve devam eden sistemde herhangi bir oynamanın yapılmaması gerektiğini savunmuştur. Aslında bu mesuliyetin paylaşılması hususu OCIMF ve IG tarafından 2001-2003 yılları arasında Uluslararası Petrol Kirliliği Tazmin Fonu (IOPC) toplantılarında çetin bir çekişmeye sahne olmuştur. Bu süreçte OCIMF tarafından savunulan argümanlar şöyledir:

- Kirlilik konvansiyonlarının tasarladığı sistem kazalarda herhangi bir payı olmayan petrol alıcılarının sağladığı katkılarla mağdurların finanse edilmesine dayalıdır. Zamanla makasın petrol alıcısı olan firmalar aleyhine açılması dengeyi bozmaktadır.
- Denize dökülen petrol kaynaklı kirlenmeler tamamen gemi operasyonlarındaki kusurlardan kaynaklanmaktadır. Bu hususta operasyona herhangi bir dahli mevzubahis olmayan petrol alıcılarının mesul tutulmaları makul değildir.
- Donatanın gemisinin düşük standartlarından kaynaklanan kusurlardan petrol alıcılarının mesul tutulmaları makul değildir.
- Amerikan Petrol Kirliliği Kanunu (OPA 90) yürürlüğe girdiğinden beri Amerika'da gemi kaynaklı petrol kirliliği % 95 oranında azalma

göstermiştir. Burada başarı OPA 90'nın öngördüğü kirlenme ödemesi temeline dayalı olan ve CLC 92'den daha sert bir mesuliyet rejimi öngören ve ayrıca donatanın mesuliyetini sınırlama limitlerinin daha yüksek olduğu bir konvansiyonun başarısıdır. Bu bağlamda CLC 92'nin öngördüğü mesuliyet rejiminde değişiklikler yapılmalı ve malikin mesuliyet limitleri artırılmalıdır.

Uluslararası Koruma ve Tazminat Kulüpleri Grubu'nun (IG) savunduğu argümanlar ise;

- CLC 69 ve Fon 71 konvansiyonlarında "kirlenme ödemesi" prensibi kabul edilmiş ve kirlenme olarak petrol tankeri malikleri ve petrol alıcıları baz alınmıştır. Zira petrol alıcılarının kirlilikten sorumlu tutulmaları petrolün üretimi ve taşınması faaliyetinden çok ciddi kar elde etmesindedir. Malikin geliri olan navlun petrol pompa fiyatının yalnızca % 8'ine denk gelmektedir ve bu bağlamda malikin kirlilik tazmini için tek adres gösterilmesi adil değildir.
- 1990 ve 1999 yılları arası meydana gelen 360 tanker kazası incelendiğinde tazminatların eşit olarak paylaşıldığı ve bu dengeyi bozmaya gerek olmadığı belirtilmektedir.
- Kirlilik konvansiyonlarında arzulanan amaç suçlunun cezalandırılmasından ziyade mağdurlar için etkili ve hızlı bir tazminat mekanizması teşkil etmektir. Bu bağlamda geminin kiracısı veyahut işleticisi gibi ayrımlara gidilmeden direk geminin kayıtlı maliki mesul tutulur ibaresi getirilmiştir. Buradaki gaye kusurun kiracıdan mı işletenden mi vs. kaynaklandığının tespitinin uzun mahkeme süreçleri gerektireceğinden mağdurların tazmini hususunun uzaması mevzu bahistir. Bazen geminin malikinin petrol dökülmesi ile hiçbir alakası olmamasına rağmen sistem tarafından mesul tutulmuştur. Benzer olarak yük tarafına ait olan katkılar da tek bir petrol alıcısı firmadan toplanmamakta ve bunun yerine bütün alıcıların katkıda bulunduğu bir fondan yapılmaktadır.

Bu argümanlar ışığında petrol kirliliğinin tazmininden mesul olan 2 taraf birbirlerine çeşitli uzlaşma teklifleri sunmuş ve nihai olarak OCIMF'in tezlerine yakın bir yerde uzlaşma sağlanmıştır. Bu bağlamda P&I kulüpleri adına IG ile IOPC Fonları (1992 Fonu ve Ek Fon) arasında bir memorandum imzalanmış ve petrol kirliliği kaynaklı zararların paylaşılması hususunda yeni bir düzenleme getiren bu düzenleme STOPIA 2006 (Small Tanker Oil Pollution Indemnification Agreement) ve TOPIA 2006 (Tanker Oil Pollution Indemnification Agreement) adlı iki ayrı sözleşmeye dayanmaktadır (Acar, 2007). Bu vesile ile 92 CLC'nin tadil edilmesi engellenmekle beraber gönüllülük esasına dayalı olarak tanker gemisi maliklerinin mesuliyet

miktarları arttırılarak IOPC Fonlarının tazmin edilmesi amaçlanmaktadır (Küçükyıldız, 2014). IG üyesi P&I kulüpleri memorandum gereği kendi üyeleri olan tanker maliklerinin bu iki sözleşmeye taraf olmasını sağlamayı yüklenmektedir.

Küçük tanker sahipleri arasındaki bir sözleşme olan STOPIA ile 29.548 GT'den küçük tonaja sahip olan tanker maliklerinin ödemesi gereken tazminat miktarını 20 milyon SDR'ye yaklaşık 27.500.000 dolara yükseltmektedir. Bu sözleşmenin Klok III (B) kısmında belirttiği üzere IG'ye üye herhangi bir P&I kulübüne giren ve Havuz Sözleşmesi (Pooling Agreement) vesilesi ile reasüre edilen bütün küçük tanker malikleri bu mekanizmaya başvurabilecektir. Sözleşmenin Klok III (B) kısmında belirttiği üzere bu tankerler ilgili gemi (relevant ship) olarak ifade edilmekte ve ilgili gemilerin IG üyesi bir P&I kulübüne girmekle STOPIA'ya otomatik girdiği kabul edilmektedir (IOPC, 2006). Özetle, 1992 Fonu STOPIA kapsamına giren gemilere ilişkin üçüncü tarafların tazmini hususunda sorumlu olmaya devam edecek fakat 29.548 GT'den küçük tankerlerin petrol kirliliğine yol açması durumunda mesuliyet limitleri olan 20 milyon SDR'ye kadar 92 Fonu tarafından yapılacak olan ilave ödeme kulüp tarafından sonradan Fona geri ödenecektir.

TOPIA'da STOPIA ile aynı esasa dayalıdır ve fark olarak TOPIA'da IG üyesi olan bir P&I kulübüne girmiş olan ve Havuz Sözleşmesi mekanizması ile reasüre edilen bütün tanker malikleri başvurabilmektedir. TOPIA'da ilgili gemi hususunda herhangi bir grosston sınırlaması yoktur ve bu sözleşmeye göre katılan malik tanımlamasına uyan herhangi bir kimse Ek Fon'un petrol kirliliği zararının tazmini için ödediği miktarın % 50'si sonradan Ek Fon'a geri ödenecektir.

2006 yılında gönüllülük esasına dayalı olarak devreye giren STOPIA ve TOPIA mekanizmalarının 10 yıl içinde meydana gelen kirlenme zararları ışığında 2016 yılında gözden geçirilmesi ve bundan sonra da her beş yılda bir gözden geçirilmenin icra edilmesi öngörülmüştür. Burada sözleşmelerin Klok VIII (C) kısmında belirtildiği üzere gemi malikleri ile petrol alıcısı firmalar tarafından yapılan ödemelerin incelenmesi ve taraflardan herhangi birinin ödediği miktarın % 60'ı aştığının anlaşıldığı durumda bozulan eşitliğin temin edilmesi için gerekli önlemlerin alınması öngörülmüştür (IOPC, 2006).

4. STOPIA 2006-TOPIA 2006 GÖZDEN GEÇİRME VE DEĞERLENDİRME: IG, 1992 Fon'una STOPIA'ya giren tankerlerin listesini tedarik etmektedir ve bu bağlamda 2015 yılında STOPIA'ya giren tanker sayısı 6.485 iken bu rakam gözden geçirmenin yapıldığı 2016 yılı Ağustos ayında 6.180'e düşmüştür. Ayrıca IG tarafından IOPC Fon'una yapılan bilgilendirmede IG kulüplerine giren ve STOPIA 2006'ya katılmayan ilgili gemi sayısı sıfır ve IG kulüpleri tarafından sigortalanan STOPIA 2006'ya giren ve

akabinde STOPIA 2006'dan çıkış yapan ilgili gemi sayısı da sıfır olmuştur. IG kulüplerine giren bazı tankerler STOPIA'ya girmemişlerdir zira bunlar Uluslararası Grup'un havuz anlaşmaları yoluyla reasüre edilmemektedirler. Bu kapsamda yer alan tanker sayısı 2015 yılında 415 iken 20 Ağustos 2016 tarihi itibari ile 404'e düşmüştür. Öte yandan bu kategoride yer alan tankerler gemi malikleri ve P&I kulüpleri arasında yapılan yazılı anlaşmaya göre ilgili gemi olarak düşünülebilir. Yazılı anlaşma ile STOPIA'ya giren tanker gemisi sayısı 2015 yılında 291 iken bu sayı 2016 yılı Ağustos ayında 282'ye düşmüştür. Örneğin 20 Ağustos 2016 tarihinin rakamları incelendiğinde görülmektedir ki 404 gemi IG üyesi P&I kulüplerinden sigorta hizmeti almakta fakat IG havuz anlaşmalarında reasüre edilmemektedir. Bu 404 tankerin 282 tanesi bağımsız bir yazılı anlaşmaya dayalı olarak STOPIA kapsamına alınmıştır ve aradaki farka bakarsak 122 adet tanker belirtilen tarihte STOPIA mekanizmasına katılmamıştır. 20 Ağustos 2019 tarihine geldiğimizde STOPIA'ya giren gemi sayısı 6.339 tanesi ilgili gemi olarak ve 239 tanesi de yazılı anlaşmaya dayalı olmak üzere toplamda 6.578 olarak gerçekleşmiştir. Ayrıca IG kulüplerinden birine giren 29.548 ton ve aşağısındaki tonajdaki gemilerden 347 tanesi IG'nin havuz anlaşmalarına katılmamakta ve böylece STOPIA'ya otomatik olarak girmemektedir. Bunlardan 239 tanesi yazılı bir anlaşmaya dayalı olarak STOPIA'ya kapsamına alındığı için aradaki fark olan 108 gemi belirtilen tarih itibariyle STOPIA kapsamına girmeyen tanker sayısını vermektedir (IOPC, 2016(a); IOPC(c), 2019).

Tablo 4.'te görüldüğü üzere üzere IG, üyesi olan P&I kulüplerinden sigorta hizmeti alan tankerlerin çok büyük bir kısmını giderek artan bir şekilde tesis ettiği STOPIA mekanizmasına soktuğu görülmektedir ve bu oran 20 Ağustos 2019 tarihi itibariyle % 98.4'e ulaşmıştır. Burada IG'nin petrol kirliliğinin tazmini hususunda taraflar arasında mesuliyetin eşit paylaşılması bağlamında etkili bir performans sergilemiştir.

Diğer tarafta IG üyesi bir P&I kulübüne girmekle beraber IG'nin havuz anlaşması yoluyla reasüre edilmeyen ve böylece STOPIA mekanizmasına katılmayan belli bir sayıda tanker gemisi mevcuttur. Tablo 5.'te de görüleceği üzere bunların ciddi bir kısmının IOPC Fonu'na en çok katkıda bulunan ülkelerden bir olan Japonya'daki koster tanker filosundan kaynaklandığı görülmektedir. Japon koster tanker gemileri analiz edildiğinde görülmektedir ki Japon P&I Kulübüne Giren 200 grosston üzeri tanker maliklerinin hemen hemen hepsi (% 99) havuz anlaşmaları yoluyla reasüre edilmekte ve STOPIA mekanizmasına katılım sağlamakta iken Japon P&I kulübüne giren toplam Japon koster tanker gemi sayısı incelendiğinde bu oran % 65'lere düşmektedir. Burada açıkça görülmektedir ki 2011 ve 2012 yılları baz alındığında 200 GT'dan küçük olan ortalama 170 Japon koster tanker gemisi IG üyesi olan Japon P&I

Kulübünden sigorta hizmeti almasına rağmen kulübün de tarafı olduğu havuz anlaşmalarına katılmamakta ve böylece STOPIA'ya dahil olmamaktadır. Günümüzde de IG üyesi bir

kulüpten sigorta hizmeti tedarik etmekte olup mezkûr mekanizmaya dâhil olmayan filonun çoğunun buradan geldiği düşünülmektedir.

Tablo 4. STOPIA 2006'ya katılım oranları.

Table 4. Participating Ratios to STOPIA 2006

Yıl	STOPIA'ya giren tanker sayısı (İlgili gemi ve yazılı anlaşma ile katılan gemilerin toplamı)	IG kulüpleri tarafından sigortalanan fakat STOPIA'ya girmeyen tanker sayısı	Toplam	STOPIA'ya giren toplam yüzde (%)
20.02.2011	6.173	208	6.381	96.7
20.08.2011	6.317	174	6.491	97.2
20.02.2012	6.039	164	6.203	97.4
15.08.2015	6.776	124	6.900	98.2
20.08.2016	6.462	122	6.584	98.1
20.08.2018	6.758	116	6.874	98.3
20.08.2019	6.578	108	6.686	98.4

Tablo 5. Japon Koster Filosu STOPIA Penetrasyon Oranları*

Table 5. Japanese Coastal Fleet STOPIA Penetration Ratios*

Yıl	Japon P&I Kulübüne Giren Japon Koster Tanker Gemi Sayısı	STOPIA'ya Giren Gemi Sayısı	STOPIA'ya Girme Yüzdesi (%)
20.02.2011	506	331	65
20.08.2011	501	327	65
20.02.2012	478	314	66

Yıl	Japon P&I Kulübüne Giren 200 GT Üzeri Japon Koster Tanker Gemi Sayısı	STOPIA'ya Giren Gemi Sayısı	STOPIA'ya Girme Yüzdesi(%)
20.02.2011	144	143	99
20.08.2011	141	139	99
20.02.2012	144	143	99

(IOPC Fon raporları)*

IG tarafından Ek Fon'a yapılan raporlamada ifade edildiği üzere, 2016 yılı rakamlarına göre IG üyesi bir kulübe giren ve TOPIA'ya girmeyen ilgili gemi sayısı sıfırdır. IG kulüpleri tarafından sigortalanan TOPIA mekanizmasına giren ve sonradan TOPIA'da yer almaktan vazgeçen ilgili gemi sayısı da sıfırdır. Ayrıca IG tarafından Ek Fon'a yapılan raporlamada yer aldığı üzere herhangi bir IG üyesi kulübe giren tankerlerden STOPIA 2006'ya yazılı anlaşma ile girmiş olan gemiler (282 adet) TOPIA 2006'ya girmemişlerdir. Çünkü bu koster tankerlerin kapasitesi çok küçüktür ve böyle tankerlerden kirlilik hasarı sonrası oluşan hasar tazminat talep maliyetlerinin 1992 Fon Sözleşmesi limitlerini (203 milyon SDR) aşması ihtimal dışı olarak düşünülmektedir. Ayrıca belirtilmelidir ki IG'nin tesis ettiği havuz anlaşmalarına girmediği için TOPIA 2006'ya girmeyen tanker sayısı 404'dür. 2019 Ekim itibarıyla IG kulüplerinden sigortalandığı halde IG havuz anlaşmalarına katılmayan gemi sayısı 347'ye düşmüştür ve bunların 239 tanesi yazılı anlaşmaya istinaden STOPIA'ya girmişlerdir fakat yukarıda belirtilen sebebe binaen TOPIA'ya girmemişlerdir. Her ne kadar bu ufak tonajlı gemilerin Fon 92 limitlerini aşmayacağı düşünülse de teoride bu gemilerden herhangi birinin lüks bir otele, restoranta, denizde üretim yapan balık çiftlikleri bölgesine, lüks yatlarla, balıkçı ağlarına vs. verebileceği zararların toplamının Fon 92 limitlerini aşması ihtimal dâhilindedir ve bir risk unsuru taşıdığı aşikârdır. Bu bağlamda IG'nin STOPIA bağlamında gösterdiği

etkinliğin bir benzerinin TOPIA hususunda da gösterilmesi beklenmektedir.

IOPC Fon'u bu iki sözleşmeye taraf değildir ve bu sözleşmelere yapılacak herhangi bir düzenleme için IOPC Fon'unun rızasının alınmasına gerek yoktur. Öte yandan gözden geçirme süresince IOPC Fon sekreteryası tarafından yapılan yorumların IG dokümanlarında geniş bir şekilde yansıtılmasına binaen Fon direktörü, gözden geçirme sonuçlarını ve önerilen düzeltmeleri uygun bulmuştur (IOPC, 2016(a)).

Her ne kadar 1992 Fonu bu iki sözleşmeye taraf olmasa da sözleşmelere uygun olarak gemi maliklerinden tazminat elde etme hususunda yasal hakka haizdir. IOPC Fon'u 2018 yıllık raporuna göre şu ana kadar STOPIA altında 1992 Fonu'na *Solar 1* (Filipinler, 2006) kazası hususunda ödeme yapmıştır ve ayrıca STOPIA'nın *Trident Star* (Malezya, 2014) kazasına da uygulanabileceği belirtilmektedir. OCIMF 2018 yıllık raporunda *Double Joy* (Malezya, 2014) kazası sonucu oluşan tazminat bedelinin CLC 92 limitlerini aşarak 92 Fon'unun devreye girebileceğini yani STOPIA'nın uygulanabileceği belirtse de IOPC Fon'u 2018 yıllık raporunda, bütün hasar tazminat taleplerinin gemi maliki/sigortacısı ile anlaşmaya varılarak çözüme kavuşturulduğu ve buradaki meblağın CLC 92 limitleri içerisinde olduğu ve IOPC Fon'unun devreye girmesine gerek kalmadığı belirtilmiştir (IOPC, 2018b; OCIMF, 2018).

Ek Fon'un dâhil olduğu herhangi bir kaza şu ana kadar meydana gelmediği için TOPIA 2006 mekanizması şu ana kadar henüz uygulanmamıştır. Ek Fon'un tazminat ödemesi gereken her bir kaza için bir Hasar Tazminat Fonu (A Claim Fund) kurulur ve şu ana kadar Ek Fon'un dâhil olduğu herhangi bir kaza meydana gelmediği için herhangi bir Hasar Tazminat Fonu kurulmamıştır (IOPC, 2018). Öte yandan Ek Fon'a taraf bir ülkede meydana gelen ilk kaza 2012 yılında Yunanistan'da meydana gelen *Alfa I* kazasıdır fakat bu kaza sonucu hâsıl olması beklenen tazminat talep miktarının 92 Fon limitini aşması ihtimal dışı olarak görülmektedir. 1992 Fon'un da dosyası kapatılmayan bir vaka olarak duran *Alfa I* kazasında, Yunanistan bayraklı tanker gemisinin malikinin sabit prim P&I kulübü olan Aigaion Sigorta Şirketi, malikin sigortacısı olarak sunduğu kirlilik sigortası teminat kapsamının herhangi bir kaza için toplam hasar tazminat talebinin gemi başına 2 milyon Avro ve poliçe şartlarında açıkça belirtildiği üzere teminatın kalıcı olmayan kargolar (non-persistent) için geçerli olduğu argümanlarına binaen malikin CLC 92 bağlamında bulunan 4,51 milyon SDR'ye denk gelen mesuliyetini kabul etmemektedir. Öte yandan malikin gemisi için CLC sertifikası düzenleyen Yunanistan'ın Pire Merkez Liman İdaresi, sigorta şirketi tarafından kendilerine sunulan mavi kartın, sigorta poliçesinin CLC 92 madde 7'ye atıf yaparak sözleşmenin uygulanabileceği mekân ve zaman (where and when applicable) hükmüne uyduğunu tedarik ettiğini ifade etmektedir. Yunan idareleri tarafından bu sigorta poliçesindeki teminat kapsamı ve liman idaresine sunulan mavi karttaki teminat kapsamındaki uyumsuzluk için ayrıca soruşturma açılmıştır. 1992 Fon'unun hukuk danışmanının görüşlerine göre sigortanın mesuliyeti teminat kapsamı ve sertifikadaki açık çelişkiye bakılmaksızın oluşmaktadır ve sigortacının, teminatın ihlali iddiasına binaen herhangi bir hasar tazminat talebini reddetmemelidir (IOPC, 2012). Bu vaka, zorunlu sigorta konusunun ne kadar ihmale gelmeyecek mühim bir mesele olduğunu göstermesi ve liman idarelerine dikkate almaları gereken bir husus olduğunu açık bir şekilde göstermektedir. Bu bağlamda Yunanistan'daki liman idarelerine örnek olması açısından belirtmelidir ki Ulaştırma ve Altyapı Bakanlığı, Türkiye Cumhuriyeti limanlarına giriş yapacak tankerlerin petrol kirliliği teminatı hususunda sahip olabileceği P&I kulüplerinin listesini her yıl güncelleyerek Muteber P&I kulüpleri olarak sitesinden deklare etmekte ve bunların büyük çoğunluğunu IG kulüpleri teşkil etmektedir.

IG, STOPIA ve TOPIA mekanizmalarının 2006 yılında devreye girmesinden sonraki 10 yıllık periyodu gözden geçirmiştir ve bu bağlamda bu sözleşmelere ufak düzeltmeler yapmıştır (Oil spills India, 2018). Her iki anlaşma 20 Şubat 2006 ve 20 Şubat 2016 arası geçen 10 yıllık periyot için CLC 92, IOPC Fon'u ve Ek Fon hasar tazminat talepleri verisi için benzer gözden geçirme

klozları ihtiva etmektedir. IG bu gözden geçirmeyi IOPC Fon Sekreteryası ve petrol alıcıları adına OCIMF ile beraber 2016 yılı başında başlamıştır. Gözden geçirme sonucu bu 10 yıllık periyotta gemi malikleri tarafından ödenen hasar tazminat taleplerinin toplam maliyetinin petrol alıcılarının ödediğinden çok daha fazla olduğu vurgulanmıştır. Her iki sözleşme de herhangi bir eşitsizliğin hâsıl olması durumunda finansal mesuliyetin dengelenmesi hususunda klozlar ihtiva etmektedir.

10 yıllık gözden geçirme periyodu verilerine göre gemi maliklerinin/IG kulüplerinin dâhil olduğu vaka sayısı 348 ve IG kulüp üyesi tanker maliklerinin ödediği toplam maliyet 256.810.499 dolardır. Öte yandan IOPC Fon'unun dâhil olduğu vaka sayısı 2 ve maruz kaldığı toplam maliyet 41.777.445 dolardır. Bu bağlamda denilebilir ki yapılan ödemelerin % 86'sı IG kulüp üyesi tanker malikleri tarafından % 14'ü ise 1992 IOPC Fon'u tarafından üstlenilmiştir. Aradaki farkın bu kadar keskin olması IOPC Fon'unun genellikle büyük çaplı kazalarda devreye girmesinden ve malik mesuliyetinin aşan kısmından sonra devreye girmesinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca bu rakamlar sadece gözden geçirme periyodu için ödenen meblağı göstermektedir ve bu periyotta vaki olup da ödenmemiş tazminatların da olması muhtemeldir. Bu rakamlar IG kulüp harici kulüplerden kirlilik teminatı alan gemi maliklerini hesaba katmamaktadır (IOPC, 2016b). Sözleşmelerin Kloz VIII (C) kısmında belirtildiği üzere gemi malikleri ile petrol alıcısı firmalar tarafından yapılan ödemelerin incelenmesi ve taraflardan herhangi birinin ödediği miktarın % 60'ı aştığının anlaşıldığı durumda bozulan eşitliğin temin edilmesi için gerekli önlemlerin alınması öngörülmüştür. Öte yandan Uluslararası Deniz Ticaret Odası (ICC) ve Uluslararası Bağımsız Tanker Sahipleri Derneği'ne (INTERTANKO) danışma sonucu IG, finansal mesuliyetin dengelenmesi ile ilgili Kloz VIII (C) hususunda herhangi bir önlemin icra edilmemesine karar vermiştir. IG, *Heberei Spirit* vakasında bu 10 yıllık dönem boyunca bir araya getirilen verilerin IOPC Fon'u tarafından yapılan toplam ödemeleri tam olarak yansıtmadığını ve IOPC Fon'u tarafından dosyası kapatılmayan bu vakanın gelecek 10 yıllık gözden geçirmede yer alacağını belirtmiştir. Bu vaka için beklenen ödemeler dikkate alındığında yükün eşit bir şekilde dağıldığının görüleceği ifade edilmektedir. Öte yandan IG gelecekte herhangi bir aleyhine eşitsizliğin oluşması durumuna binaen sözleşmeler üzerinde gerekli değişikliği yapma hakkını saklı tutmaktadır (Britannia, 2017).

STOPIA ve TOPIA sözleşmelerine 10 yıllık gözden geçirme sonucu bazı değişiklikler yapılmıştır ve bundan böyle STOPIA 2006 (2017 düzeltilmiş hali) ve TOPIA 2006 (2017 düzeltilmiş hali) olarak yeniden adlandırılmıştır.

Burada yapılan değişiklikler şunlardır:

- Gelecek gözden geçirmelerin 5 yıllık hasar tazminat talep verisi (claim data) yerine orijinal sözleşmede ilk gözden geçirme için geçerli olan 10 yıllık bir süreç için yapılması kararlaştırılmıştır ve bu bağlamda gelecek gözden geçirme 2026 yılında icra edilecektir. Zira IG'ye göre 5 yıllık periyotlarla yapılacak gözden geçirmelerde taraflar arasında mesuliyetlerin paylaşılması ile alakalı olarak herhangi anlamlı bir sonuca ulaşmanın zor olduğu ve sürenin çok kısa olduğu belirtilmiştir.
- Gelecek gözden geçirmede o dönemin hasar tazminat talep verisinin yerine bütün gözden geçirme periyotlarında toplanan kümülatif hasar tazminat talep verilerinin dikkate alınması kararlaştırılmıştır.
- Gemi maliklerini ve sigortacılarını herhangi bir uygulanabilir yaptırım rejimi kapsamına giren bir ödeme yapılmasını engelleyen bir yasamanın sonucu olarak, gemi maliklerini ve IG kulüplerini, kontrolleri dışındaki sebeplerin geliştiği durumlar karşısında, sözleşmelere uygun olarak 1992 Fonu'na ve Ek Fon'a geri ödeme yapmasını önleme hususunda korumak için güncellenen sözleşmenin IV (H) kısmına ilgili hükümler eklenmiştir (Britannia, 2017). Zira deniz ulaştırması, ticareti ve ilintili olarak sigorta ve reasürans aktiviteleri üzerindeki uluslararası yaptırımlar ve engellemeler IG kulüplerinin ve daha geniş kapsamda sigorta endüstrisinin sigorta teminatı ve kuralları üzerinde sona erme/fesih klozlarını (cesser clause/ termination clause) devreye sokması ile sonuçlanmaktadır. Sigortalı tarafın yaptırımı delen sefer yapması durumuna binaen IG kulüplerinin ve reasürörlerinin korunması için bu önlemler gereklidir. Avrupa Birliği veyahut ABD yaptırımlarının ihlali birçok açıdan maddi bazen de hapis gibi cezalandırmalara sebebiyet verebilmektedir.

SONUÇ

Tanker gemilerinin sebep olduğu petrol kirliliği tazminat rejiminin ilk ayağı CLC 1969 ve Fon 1971 Sözleşmeleri ile teşkil edilmiştir. Daha sonradan tanker malikinin ve IOPC Fonu'nun mesuliyet miktarlarını arttıran CLC 1992 ve Fon 1992 Konvansiyonları ile tadil edilen bu iki basamaklı tazminat sistemine, kaza kaynaklı tazminat miktarlarının artmasına binaen 2005 yılında devreye giren Ek Fon Protokolü 2003 getirilerek böylece üç basamaklı tazminat sistemi oluşturulmuştur. Ek Fon, CLC 92 ve Fon 92 Sözleşmelerine binaen hala tazmin edilmeyen meblağlar mevcut ise aradaki farkı kapatmak

için devreye girmekte ve günümüz rakamlarıyla yaklaşık olarak 6.100.000.000 TL'ye kadar teminat sunabilmektedir. Bu çapta yüksek teminat sunabilen Ek Fon'un finansman yükünün petrol alıcıları tarafından üstlenilmesi beraberinde tartışmaları da getirmiştir. Bu bağlamda petrol alıcılarının yüklendiği mesuliyetin dengelenmesi hususunda 13 büyük P&I kulübünü bünyesinde barındıran Uluslararası P&I Kulüpler Grubu, STOPIA ve TOPIA adlı iki mekanizmayı devreye sokarak tanker malikleri adına mesuliyetlerin taraflar arasında eşit bir şekilde dağıtılmasını hedeflemiştir. Bu mekanizmalarla CLC 92 ile sorumluluğu sınırlandırılan tanker maliklerinin mesuliyet miktarları artırılarak IOPC Fon'larını tazmin etmesi sağlanmıştır. Uluslararası Grup'un, üyesi olan P&I kulüplerinden sigorta hizmeti alan tankerlerin çok büyük bir kısmını tesis ettiği STOPIA mekanizmasına soktuğu görülmektedir. Burada Uluslararası Grup'un petrol kirliliğinin tazmini hususunda taraflar arasında mesuliyetin eşit paylaşılması bağlamında etkili bir rol oynamıştır. Bu çaba sözleşmelerin yeniden tadil edilmesi tartışmalarının önünü kesmiştir fakat denebilir ki petrol kirliliğinin tazminine dair CLC 92, Fon 92, Ek Fon Protokolü, STOPIA ve TOPIA gibi düzenlemeler çok parçalı bir görüntü sergilemektedir ve yeknesak bir mesuliyet rejiminin getirilmesi uygulamada kolaylık sağlayacaktır. Ayrıca Uluslararası Grup'un konu hususunda oluşturduğu mekanizmalarına girmeyen az sayıda tankerin tazminat rejiminde dengenin sağlanması hususunda risk unsuru ihtiva etmeye devam etmektedir ve bu bağlamda Uluslararası Grup'un STOPIA hususunda gösterdiği etkinliğin bir benzerini TOPIA hususunda da göstermesi beklenmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdullayev, C. (2003).** *Uluslararası Hukuk Açısından Denizyolu İle Taşımacılıktan Kaynaklanan Petrol Kirliliği*, T. C. Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Kamu Hukuku Anabilim Dalı, Çankaya-Ankara, Türkiye, 393s.
- Acar, S.(2009).** Petrolden kaynaklanan kirlenme zararlarının tazmininde yeni Dönem: STOPIA ve TOPIA. e-akademi; *Hukuk, Ekonomi ve Siyasal Bilimler Aylık İnternet Dergisi*, **83**, 42s. (*).
- Acar, S. (2007).** *Kulüp sigortası (P&I)*, T.C. İstanbul Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Özel Hukuk Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye, 638 p.
- Billah, M.M. (2011).** The Role of Insurance in Providing Adequate Compensation and in Reducing Pollution Incidents: the Case of the International Oil Pollution Liability Regime, *Pace Environmental Law Review* (29)I, 78 p.

- Demir, İ. (2012).** 1992 Petrol Kirliliği Zararının Tazmini İçin Bir Uluslararası Fonun Kurulması İle İlgili Uluslararası Sözleşme’de 2003 Tarihli Protokol İle Kabul Edilen Değişiklikler. *İnönü Üniversitesi Hukuk Fakültesi Dergisi*, 3(1), 213-256.
- Küçükıldız, M.Ç (2014).** *Petrol Tankeri Kazalarının Deniz Çevresine Etkileri Ve Tazmin Sistemi*, T.C Ulaştırma, Denizcilik Ve Haberleşme Bakanlığı. Çankaya-Ankara, Türkiye, 100s.
- Keçeli, A., Pekşen, N.H. & Küçükıldız, M.Ç. (2016).** *Petrol kirliliği hukuki sorumluluğu ve uluslararası tazmin sistemi & ulusal mevzuat, 1992 uluslararası petrol kirliliği tazmin fonu talepler el kitabı Ekim 2013 baskısı gayriresmi tercümesi & ilgili mevzuat ve uygulamalar*. T.C Ulaştırma, Denizcilik Ve Haberleşme Bakanlığı. Çankaya-Ankara, 41 s.
- IOPC. (2003).** *The IOPC Funds' 25 Years of Compensating Victims of Oil Pollution Incidents*, London, 118 p.
- IMF. (2020).** https://www.imf.org/external/np/fin/data/rms_sdrv.aspx
- IOPC. (2018 a).** Liability and compensation for oil pollution damage, Texts of the 1992 Civil Liability Convention, the 1992 Fund Convention and the Supplementary Fund Protocol, London, 30 P.
- IOPC. (2018 b).** https://iopcfunds.org/wp-content/uploads/2019/03/Annual-Report_2018-for-WEB_e..pdf Annual report, London, 56 p.
- IOPC Funds. (2020).** <https://iopcfunds.org/about-us/membership/a-z-listing/>
- OCIMF. (2018).** Annual report, 5p. <https://www.ocimf.org/media/86798/ocimf-annual-report-2018-web-.pdf>
- OIL SPILLS INDIA. (2018).** Conventions, claims & compensation, developments & Industry perspectives: The 2003 supplementary fund protocol and stopia/topia: an IG perspective, Oil Spill India 5&6 July, 2018, India.
- The Britannia Steam Ship Insurance Association Limited (2017).** STOPIA 2006 and TOPIA 2006 – review and amendments for 2017, Circular, 23p.
- IOPC Funds. (2006).** Small Tanker Oil Pollution Indemnification Agreement Stopia 2006, STOPIA 2006 and TOPIA 2006, London, 29p.
- IOPC Funds. (2016 a).** Recent information on entered ships and revision of STOPIA 2006 and TOPIA 2006, London
- IOPC Funds. (2016 b).** Agenda Item 4, Submitted by the International Group of P&I Associations, STOPIA 2006 and TOPIA 2006, London, 4 p.
- IOPC Funds. (2016 c).** Agenda Item 11, Record Of Decisions Of The October 2016 Sessions of The Iopc Funds’ Governing Bodies, London, 89 p.
- IOPC Funds. (2011).** International Convention on Civil Liability for Oil Pollution Damage, 1992, Texts of The 1992 Civil Liability Convention, the 1992 Fund Convention and the Supplementary Fund Protocol, Liability and Compensation for Oil Pollution Damage, London, 58 p.
- IOPC Funds. (2012).** Incidents, <https://iopcfunds.org/incidents/incident-map/#1912-05-March-2012>
- IOPC Funds. (2019).** Recent Information on Entered Ships, IOPC/OCT19/4/2, <https://documentservices.iopcfunds.org/meeting-documents?filter-year=2019>



Influence of Lead and Applied Singly and in Mixture with Chitosan on Tissue Accumulation of *Clarias gariepinus*

Mustafa TUNÇSOY* Servet DURAN

Çukurova University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 01330 Sarıçam, Adana, Türkiye

Geliş/Received: 18.02.2020

Kabul/Accepted: 18.05.2020

How to cite: **How to cite: Tunçsoy, M. & Duran, S. (2020).** Influence of Lead and Applied Singly and in Mixture with Chitosan on Tissue Accumulation of *Clarias gariepinus*. J. Anatolian Env. and Anim. Sciences, 5(2), 173-177.

Atf yapmak için: **Tunçsoy, M. & Duran, S. (2020).** Kurşun ve Kurşun-Kitosan Karışımının *Clarias gariepinus*'da doku birikimi üzerine etkileri. Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi, 5(2), 173-177.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7306-0539>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1496-1932>

*Corresponding author's:
Mustafa TUNÇSOY
Çukurova University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 01330 Sarıçam, Adana, Türkiye.
✉: mustafa_tuncsoy@hotmail.com
Mobile telephone : +90 (539) 815 28 28

Abstract: *Clarias gariepinus* was exposed to 1 ppm Pb singly and in mixture with 75 ppm chitosan (CT) and the levels of Pb in gill, liver, spleen, kidney and muscle tissues were determined after 1, 7 and 15 days. Lead accumulation increased in gill tissue compared to control when exposed to Pb alone and in mixture on 7th day. A significant decrease, however, was observed in gill level on exposure to Pb+CT mixture on day 15. Exposure to Pb alone increased the level in liver significantly after 15 days compared to control fish. Exposure to Pb alone and to mixture had no effect on kidney accumulation. Pb accumulation increased in spleen tissue compared to control when exposed to Pb alone on 1st and 7th days, it decreased when exposed to Pb+CT mixture at these exposure periods. Muscle Pb accumulation was higher in fish exposed to Pb only as compared to controls and in fish exposed to Pb+CT mixture on 1st day. The studied lead concentrations caused alterations in the metal accumulation especially gill and liver tissues. Chitosan seemed to decrease the harmful effects of Pb on long term exposures.

Keywords: Accumulation, *Clarias gariepinus*, chitosan, lead, mixture.

Kurşun ve Kurşun-Kitosan Karışımının *Clarias gariepinus*'da doku birikimi üzerine etkileri

Öz: Bu çalışmada 1 ppm kurşunun tek başına ve 75 ppm kitosan ile karışımlarının 1, 7 ve 15 günlük etki sürelerinde *C. gariepinus*'un solungaç, karaciğer, böbrek, dalak ve kas dokularındaki metal birikiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kurşunun tek başına ve karışımın 7 günlük etki süresinde solungaç dokusunda biriktiği belirlenmiştir. Karışımın 15 günlük etki süresinde ise solungaç dokusundaki kurşun birikimi azalmıştır. Kurşunun tek başına 15 günlük süreyle etkisinde karaciğerde birikim artış göstermiştir. Böbrek dokusunda kurşunun tek başına ve karışımın etkisinde birikim gözlenmemiştir. Dalak dokusunda kurşunun tek başına 1 ve 7 günlük etki süresindeki kurşun birikimi artış gösterirken, karışımın aynı sürelerle etkisindeki birikim düşüş göstermiştir. Kas dokusunda ise kurşunun tek başına ve karışımın etkisinde yalnızca 1 günlük etki süresinde birikim gözlenmiştir. İncelenen kurşun derişimleri özellikle solungaç ve karaciğer dokusunda birikme neden olmuş, kitosanın uzun süreli etkisi kurşun birikimini azaltmıştır.

Anahtar kelimeler: Birikim, *Clarias gariepinus*, karışım, kitosan, kurşun.

*Sorumlu yazar:
Mustafa TUNÇSOY
Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü 01330 Sarıçam, Adana, Türkiye.
✉: mustafa_tuncsoy@hotmail.com
Mobile telephone : +90 (539) 815 28 28

INTRODUCTION

Lead (Pb) has physical and chemical properties that make it extremely useful in various industries such as lead battery production and colored inks and paint preparation. Discharge of Pb containing urban, agricultural and industrial waste waters to aquatic environments result in a number of physiological and biochemical disturbances to organisms living in these environments. (Shaw et. al., 2006; Kusemiju et al., 2012). Pb have no biological function and is toxic even at very low concentrations. It is a potentially toxic chemical for aquatic animals such as fish and shellfish (Cicik, 2003). Chitin is a polymer of glucosamine which is found in shells or walls of invertebrates, fungi and yeasts. Chitosan (CT), an amino polysaccharide, is prepared from shellfish chitin by treatment with alkali. (Muzzarelli, 1977). CT is able to form complexes with many of the transition metals. The heavy metal-polymer complexes are believed to form as a result of dative bonding with CT (Muzzarelli, 1973). Physiological and biochemical profiles in fish and other aquatic organisms under heavy metal stress serve as important bioindicators in aquatic environment monitoring (Abbas et al., 2007; Firidin, 2019, Tunçsoy, 2019). *Clarias gariepinus* was chosen as an experimental fish species since the species is commonly found in streams and drainage channels of Mediterranean region, its consumption as a protein source in the region, its wide tolerance against pollutants and its habitat being under the effect of agricultural and industrial activities.

Aquatic organisms uptake the metals from water and sediment mainly via their gills and digestive track and accumulate them in various tissues. CT is well known as an excellent biosorbent for metal cation removal in near-neutral solutions because the large number of NH_2 groups (Seyedi, 2013). Hence the aim of the present study was to determine metal levels in gill, liver, kidney, spleen and muscle tissues of *C. gariepinus* after exposing the animals to 1ppm Pb and 1ppm Pb+75ppm CT over 1, 7 and 15 days.

MATERIAL AND METHODS

C. gariepinus was obtained from a private fish farm in Silifke-Mersin-Turkey. The mean length and weight of the animals were 21.9 ± 2.5 cm and 73 ± 3.11 g respectively. Fish were adapted to laboratory conditions for one month in glass aquaria 40x120x40 cm in height. The same sized five aquaria were used in the experiments. The first two aquaria were filled with 120 L of 1.0 ppm Pb and 1.0 ppm Pb + 75 ppm CT, respectively while the third one was filled with the same amount of lead-free tap water and used as control. Lead nitrate ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$) was used in the preparation of experimental solution and trisodium citrate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) was used to prevent precipitation and

adsorption of the metal. Experimental solutions were replaced daily, by serial dilution of freshly prepared 1000 ppm stock solution of the metal. 1 % acetic acid was used to prepare CT stock solution (Aldrich, GR, Deacetylation C75 %). Some physical and chemical properties of experimental water were as follows;

Temperature: $21.5 \pm 1^\circ\text{C}$,

Total alkalinity: 305 ± 0.5 mg CaCO_3/L

Dissolved Oxygen: 7.01 ± 0.6 mg/L,

pH: 8.2 ± 0.5 .

Experiments were run in triplicate being 3 fish in each replicate, hence 9 fish were placed in each aquarium totaling to 27 fish. Fish were fed once a day with readymade fish feed (Pınar, Pellet No: 2) at amounts of 2% of total biomass. Fish were anesthetized with MS222. They were then washed with tap water and dried with Whatman filter papers.

Three fish were removed from each aquarium at the end of 1, 7, and 15 days of exposure periods, they were washed dried and dissected for their gill, liver, spleen, kidney and muscle tissues. Tissues were placed in petri dishes after being wet weighted and were placed in a drying oven set at 150°C for 48 hours. Dried tissues were then transferred to experimental tubes and digested in nitric acid (Merck, 65%) / perchloric acid (Merck, 60%) mixture (2/1; v/v) at 120°C for three hours (Muramoto, 1983). Digested tissues were transferred to polyethylene tubes and their volumes were made up to 10 ml with distilled water. Metal levels in tissues were determined using atomic absorption spectrophotometric techniques.

Statistical analysis of the data was carried out by Analysis of Variance and Student Newman's Procedure (SNK) using SPSS-21 statistical package program (Sokal and Rohlf, 1995).

RESULTS AND DISCUSSION

There was no mortality of fish during the experiments which was probably due to low metal concentration tested. The gills are considered as the main site of entry for the dissolved metal salts. They are sensitive to any change in water components hence serve as a good indicator of in water quality since gill filaments and lamellae provide a very large surface area for direct and continuous contact with contaminants in water (Gaber, 2007).

Metals entering from gills are firstly transferred to liver by the circulatory system, and when the carrying capacity of liver is exceeded, they are transferred and stored in metabolically active tissues, especially in kidney. Liver is a metabolically active tissue since it plays role in

conversion of food, binding of harmful substances and in digestion of macromolecules especially lipids (Heath, 1995). When the metal binding capacity of liver is exceeded, the excess amount of metals is sent to kidneys for excretion (Hollis et al., 1999). Spleen is an important member of the body's immune and lymphatic system as well as it is a hematopoietic organ in which blood cells synthesized and stored (Tayel et al., 2008), also it acts as a filter and purifier of the blood (Garcia-Abiado et al., 2004). Exposure to Pb alone and mixture had no effect on kidney accumulation (Figure 1C; $P>0.05$). Pb accumulation increased in spleen tissue compared to control when exposed to Pb alone on 1st and 7th days whereas its accumulation decreased with increasing periods (Figure 1D; $P<0.05$). Muscle is not an effective tissue in binding metals, it is, however, important to know metal levels in this tissue as far as food chain and human health is concerned (Duran et al., 2015). Pb accumulation in gill tissue exposed to Pb alone increased with increasing exposure periods and in mixture increased on 7th day while decreased on 15th day. Exposure to Pb alone increased Pb accumulation of *C. gariepinus* on 7th day whereas its accumulation decreased with increasing periods (Figure 1A; $P<0.05$). Pb accumulation increased in gill tissue of *C. gariepinus* compared to control when exposed to Pb alone on 7th and 15th days while decreased in this tissue exposed to mixture on 15th day (Figure 1A; $P<0.05$). Pb accumulation increased in liver tissue compared to control when exposed to Pb alone on 15th day. Exposure to Pb alone increased Pb accumulation of *C. gariepinus* on 7th day whereas its accumulation decreased with increasing periods (Figure 1B; $P<0.05$). Pb accumulation increased in muscle tissue of *C. gariepinus* compared to control when exposed to Pb alone on 1st day while decreased in this tissue exposed to mixture at same exposure periods (Figure 1E; $P<0.05$).

Metals entering from gills are firstly transferred to liver by the circulatory system, and when the carrying capacity of liver is exceeded, they are transferred and stored in metabolically active tissues, especially in kidney. Liver is a metabolically active tissue since it plays role in conversion of food, binding of harmful substances and in digestion of macromolecules especially lipids (Heath, 1995). When the metal binding capacity of liver is exceeded, the excess amount of metals is sent to kidneys for excretion (Hollis et al., 1999). Spleen is an important member of the body's immune and lymphatic system as well as it is a hematopoietic organ in which blood cells synthesized and stored (Tayel et al., 2008), also it acts as a filter and purifier of the blood (Garcia-Abiado et al., 2004). Exposure to Pb alone and mixture had no effect on kidney accumulation (Figure 1C; $P>0.05$).

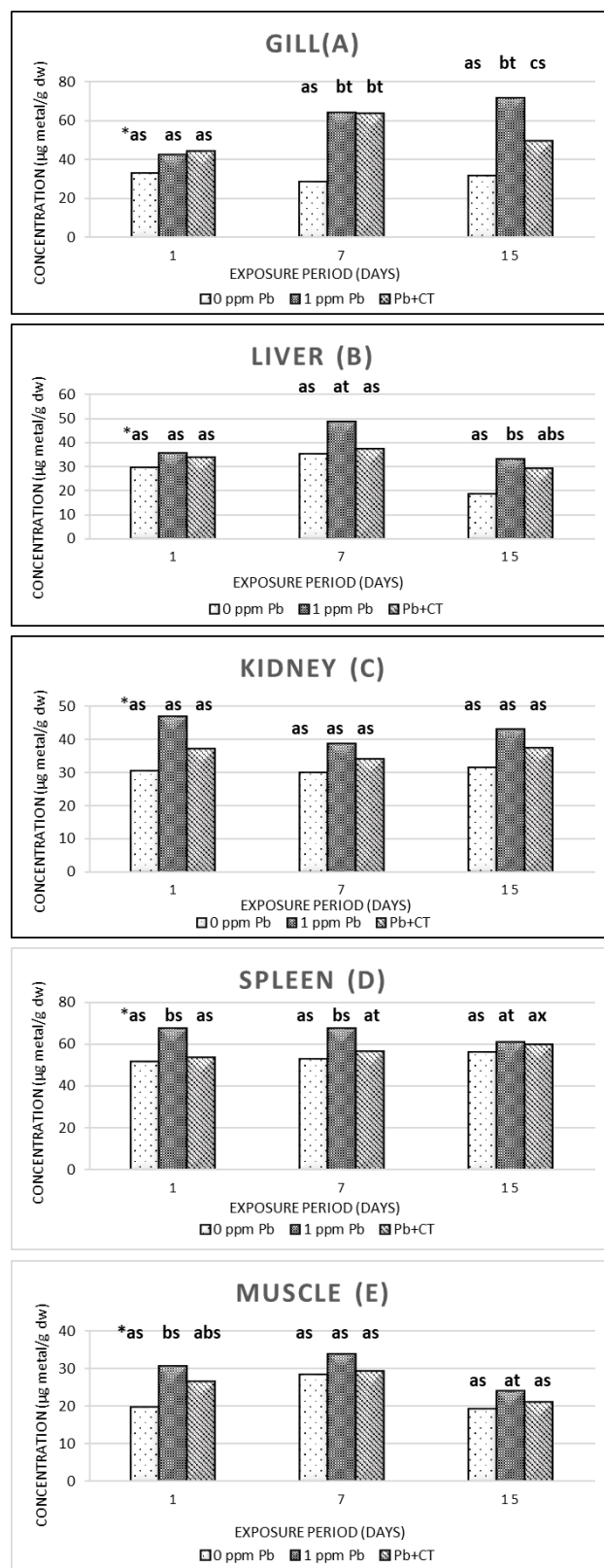


Figure 1. Lead accumulation in tissues of *Clarias gariepinus* exposed to Pb and Pb-CT mixture ($\mu\text{g metal/g.d.w.}$).

*=SNK; Letters a, b, c and s, t, x show differences among concentrations and exposure periods at a given tissue respectively. Data shown with different letters are significant at the $P<0.05$ level.

Pb accumulation increased in spleen tissue compared to control when exposed to Pb alone on 1st and 7th days whereas its accumulation decreased with increasing periods (Figure 1D; P<0.05). Muscle is not an effective tissue in binding metals, it is, however, important to know metal levels in this tissue as far as food chain and human health is concerned (Duran et al., 2015). Pb accumulation in gill tissue exposed to Pb alone increased with increasing exposure periods and in mixture increased on 7th day while decreased on 15th day. Exposure to Pb alone increased Pb accumulation of *C. gariepinus* on 7th day whereas its accumulation decreased with increasing periods (Figure 1A; P<0.05). Pb accumulation increased in gill tissue of *C. gariepinus* compared to control when exposed to Pb alone on 7th and 15th days while decreased in this tissue exposed to mixture on 15th day (Figure 1A; P<0.05). Pb accumulation increased in liver tissue compared to control when exposed to Pb alone on 15th day. Exposure to Pb alone increased Pb accumulation of *C. gariepinus* on 7th day whereas its accumulation decreased with increasing periods (Figure 1B; P<0.05). Pb accumulation increased in muscle tissue of *C. gariepinus* compared to control when exposed to Pb alone on 1st day while decreased in this tissue exposed to mixture at same exposure periods (Figure 1E; P<0.05).

Chitosan has recently been recognized as a biopolymer with significant potential for use as biosorbent for removal of metal ions from wastewater. Dynamic and static adsorption experiments with heavy metal ions indicated that chitosan can be effectively used to adsorb these metals by establishing their different interactions with its amino and hydroxyl groups (Vieira and Beppu, 2014). Several values have predicted the trend of adsorption behavior with respect to the stability of metal-bio-adsorbent complexes of Pb > Cu > Ni > Zn > Cd (Spotio, 1981). Pb ions are adsorbed to chitosan by coordinate and covalent linkages, ion exchange mechanisms, and electrostatic forces (Krishnamurthy and Harris, 1960). Copper-Chitosan complex increased metal accumulation in gill tissue while decreased in liver tissue of *C. gariepinus* (Tunçsoy et al., 2016).

Various biosorbents such as chitin and chitosan (CT) are known to form stable complexes with many metal ions. Chitin is widely distributed in nature, especially in the exoskeletons of marine invertebrates such as prawn, crab and lobster whereas its derivative CT has reactive amino groups which forms complexes between metal ions and the polymer chain. It was concluded that the studied lead concentrations caused alterations in the metal accumulation especially gill and liver tissues. Chitosan, which is a natural adsorbent, seemed to decrease the harmful effects of Pb on long term exposures.

REFERENCES

- Abbas, H.H.H., Mahmoud, H.M. & Miller, J.D. (2007).** Vitamin C and Cadmium Toxicity in Fish *Oreochromis niloticus*. *Online Journal of Veterinary Research* **11**, 54-74.
- Cicik, B. (2003).** Bakır-Çinko Etkileşiminin Sazan (*Cyprinus carpio* L.)'nın Karaciğer, Solungaç ve Kas Dokularındaki Metal Birikimi Üzerine Etkileri. *Ekoloji*, **12**(48), 32-36.
- Duran, S., Tunçsoy, M., Yeşilbudak, B., Ay, Ö., Cicik, B. & Erdem, C. (2015).** Metal Accumulation in Various Tissues of *Clarias Gariepinus* Exposed to Copper, Zinc, Cadmium and Lead Singly and in Mixture. *Fresenius Environmental Bulletin*. **24**(12c), 4738-4742.
- Firidin, G. (2019).** Effects of Lead and Its Selenium Mixtures on Biochemical Parameters of *Oreochromis niloticus*. *Fresenius Environmental Bulletin*. **28**(1), 383-390.
- Gaber, H.S. (2007).** Impact of Certain Heavy Metals on the Gill and Liver of the Nile Tilapia *Oreochromis niloticus*, *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, **11**, 79–100
- Garcia-Abiado, M.A., Mbahinzireki, G., Rinchar, J., Lee, K.J. & Dabrowski, K. (2004).** Effect of Diets Containing Gossypol on Blood Parameters and Spleen Structure in Tilapia, *Oreochromis sp.*, reared in a Recirculating system. *Journal of Fish Diseases*, **27**(6), 359-368.
- Heath, A.G. (1995).** *Water Pollution and Fish Physiology*. CRC press, Florida, USA, pp. 245.
- Hollis, L., Mcgeer, J.C., Mcdonald, D.G. & Wood, C.M. (1999).** Cadmium Accumulation, Gill Cd Binding, Acclimation and Physiological Effects during Long Term Sublethal Cd Exposure in Rainbow Trout. *Aquatic Toxicology*, **46**, 101-119.
- Krishnamurthy, K.V. & Harris, G.M. (1960).** The Chemistry of the Metal Oxalato Complexes. *Chemical Reviews*, **1**, 213-246.
- Kusemiju, V., Amoruwa, P. & Aderinola, J.A. (2012).** Accumulation of Lead in the Tissues of Freshwater Catfish *Clarias gariepinus* Exposed to Static Nominal Concentrations of Lead Nitrate. *Agriculture and Biology Journal of North America*, **3**(12), 510-515.
- Muramoto, S. (1983).** Elimination of Copper from Cu-Contaminated Fish by Long-Term Exposure to EDTA and Freshwater. *Journal of Environmental Science and Health*, **A18** (3), 455-461.
- Muzzarelli, R.A.A. (1973).** *Natural Chelating Polymers: Alginic Acid, Chitin and Chitosan*. Pergamon, Oxford, pp. 254.

- Muzzarelli, R.A.A. (1977).** *Enzymatic Synthesis of Chitin and Chitosan. Occurrence of Chitin.* In: Muzzarelli, R. A. A. Eds., Chitin, Pergamon Press, New York, 5-44.
- Seyedi, S.M., Anvaripour, B., Motavassel, M. & Jadidi, N. (2013).** Comparative Cadmium Adsorption from Water by Nanochitosan and Chitosan, *International Journal of Engineering and Innovative Technology*, 2(9), 145-148.
- Shaw, J.R., Dempsey, T.D., Chen, C.Y., Hamilton, J.W. & Folt, C.L. (2006).** Comparative Toxicity of Cadmium, Zinc and Mixtures of Cadmium and Zinc to Daphnids. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25, 182-189.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995).** *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research.* 3rd Edition. W.H. Freeman and Co., New York.
- Spósito, G., Holtzclaw, K.M., & LeVesque-Madore, C.S. (1981).** Trace Metal Complexation by Fulvic Acid Extracted from Sewage Sludge: I. Determination of Stability Constants and Linear Correlation Analysis. *Soil Science Society of America Journal*, 45, 465-468.
- Tayel, S.I., Yacoub, A.M. & Mahmoud, S.A., (2008).** Histopathological and Haematological Responses to Freshwater Pollution in the Nile Catfish *Clarias gariepinus*. *Journal of Egyptian Academic Society for Environmental Development*, 9(4), 43-60.
- Tunçsoy, M., Duran, S., Ay Ö., Cıçık, B. & Erdem, C. (2016).** Accumulation of copper in gill, liver, spleen, kidney and muscle tissues of *Clarias gariepinus* exposed to the metal singly and in mixture with chitosan. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(4), 486-489.
- Tunçsoy, M., (2019).** Influence of Copper Oxide Nanoparticles on Some Serum Parameters of *Clarias gariepinus*. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(3), 387-392.
- Vieira, R.S. & Beppu, M.M. (2014).** Chitosan as Adsorbent For Heavy Metal Ions: Performance and Adsorption Mechanism. In: Liam N. Robinson. (Org.). *Water Resources Research Progress.* Nova York: Nova Science Publishers, Inc, 149-175.



Süt Sığırlarının Beslenmesinde Metabolize Edilebilir Protein Sistemleri

Mirza Yiğithan ÖĞÜT* **Nurcan ÇETİNKAYA**

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, 55139 Samsun, Türkiye.

Geliş/Received: 28.02.2020

Kabul/Accepted: 31.05.2020

Atıf yapmak için: Öğüt, M.Y. & Çetinkaya, N. (2020). Süt Sığırlarının Beslenmesinde Metabolize Edilebilir Protein Sistemleri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 178-184.

How to cite: Öğüt, M.Y. & Çetinkaya, N. (2020). Metabolizable Protein Systems in Dairy Cattle Nutrition. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 178-184.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-4103-4736>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-9977-2937>

***Sorumlu yazarın:**

Mirza Yiğithan ÖĞÜT
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme
Hastalıkları Anabilim Dalı, 55139 Samsun,
Türkiye
✉: yigithanogut@gmail.com
Cep telefonu : +90 (538) 404 64 79

Öz: Son yıllarda süt sığırlarında protein beslenmesinin anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Metabolize edilebilir protein(MEP) ihtiyacı, hayvanın yaşama payı ve verim payını canlı ağırlık artışı, gebelik ve süt üretimi gibi net olarak karşılayan protein miktarıdır. MEP ince bağırsak tarafından emilen hem mikrobiyal hem de rumende parçalanmayan proteinden(RUP) oluşmaktadır. Bu nedenle, sadece rasyon ham protein(HP) değerini kullanarak ruminant rasyonlarının hazırlanması hatalı olmaktadır. Wende analizi ve deterjan analizi gibi geleneksel yem analizi yöntemleri, yem HP'yi tek bir birim olarak kabul eder; yem proteini fraksiyonlarının rumen parçalanabilirliğini, mikrobiyal protein sentezini, bağırsağa akış hızlarını ve bunların emilimini hesaba katmaz. Bu nedenle, süt ineklerinin protein ihtiyaçlarını karşılamak için hazırlanan rasyon sadece rasyon protein kaynağı olarak HP'yi değil aynı zamanda rumende sentezlenen mikrobiyal proteini(MP) de içermelidir. MP sistemleri her iki faktörü de göz önünde bulundurarak rumende parçalanabilir protein(RDP) ve RUP, ayrı ayrı rumen mikroplarının ve hayvanın protein ihtiyaçlarının karşılanmasında MP'in sentezini ve MEP'in hesaplanmasını içermekte ve böylece doğru olarak protein ihtiyaçlarını belirlenmektedir. Bu derleme makalesinde süt sığırlarının protein beslenmesi konusunda sadece rasyondaki HP dikkate alan basit besleme sisteminden sonra geliştirilmiş MEP sistemlerinde yer alan prensipleri ve kavramları son gelişmelerle birlikte incelemek amaçlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Ham protein, metabolize edilebilir protein, protein değerlendirme sistemleri, süt sığırları.

Metabolizable Protein Systems in Dairy Cattle Nutrition

Abstract: In recent years, significant improvements have been achieved in understanding protein nutrition in dairy cattle. The metabolizable protein(MEP) requirement is defined as the amount of protein that meets precisely the animal's maintenance and productions such as live weight gain, pregnancy and milk yield. This MEP consists of both microbial and also rumen undegradable protein(RUP) absorbed by the small intestine. Therefore, the preparation of ruminant diets using only the diet crude protein(CP) value is not correct. Conventional feed analysis methods, such as Wende analysis and detergent analysis, accept the feed crude protein(CP) as a single unit; it does not take into account rumen degradability of feed protein fractions, microbial protein synthesis, intestinal flow rates and their absorption. Therefore, the diet prepared to meet the protein requirements of dairy cows should include not only CP as a source of diet protein, but also microbial protein synthesized in the rumen. Microbial protein(MP) systems, taking into account both factors, rumen degradable protein(RDP) and RUP, the individual rumen microbes and the synthesis of MP to meet the protein requirements of the animal as well as the estimation of the MEP and thus accurately determine protein requirements. In this review article, the objective is to evaluate the principles and concepts with the latest developments in MEP systems developed after the simple feeding system which considers only CP in protein nutrition of dairy cattle.

***Corresponding author's:**

AUTHOR
Ondokuz Mayıs University, Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Animal
Nutrition and Nutritional Diseases, 55139
Samsun, Turkey
✉: yigithanogut@gmail.com
Cep telefonu : +90 (538) 404 64 79

Keywords: Crude protein, dairy cattle, metabolizable protein, protein evaluation system.

GİRİŞ

Ruminantlar tek midelilerden farklı bir protein metabolizmasına sahiptir. Yem proteinleri mikroorganizmalar tarafından rumende amonyak ve yağ asitlerine parçalanırlar. Bakteriler amonyağı kullanarak çoğalırlar. Amonyagin MP sentezinde kullanım kapasitesi büyük oranda karbonhidrat fermantasyonunun ürettiği enerjiye bağlıdır. Ortalama 100 g organik maddenin rumende fermante olması sonucu 20 g MP sentezlenir. Rasyondaki azot miktarının düşük olduğu durumlarda, büyük miktarda üre rumene geri döner ve rumende mikroorganizmalar tarafından kullanılabilirler. İneklerin rasyonlarında tek azot kaynağı olarak NPN kullanarak günde 500-600 g yüksek kalitede süt proteini ve laktasyon boyunca 4000 kg süt üretimi alınabilmektedir (Wattiaux, 2017). Süt sığırlarında protein değerlendirme sistemleri rasyon HP'i için basit beslenme standartlarından, rumen amonyak ve rumende parçalanabilen protein (RDP) ve bağırsaktan emilebilir amino asit (AA) için ihtiyaçları öngörmek üzere tasarlanmış kompleks beslenme modellerine dönüştürülmüştür. Cornell net karbonhidrat ve protein sistemi-(CNCP) ve CPM-Dairy sistemi rasyonun içerdiği AA'leri dikkate alan ilk geliştirilmiş modellerdir (CNCP, 2003). NRC (1989) protein verilerinin sınırlı olması ve yeni verilerin ortaya çıkmasıyla, NRC (2001) komitesi yeni bir AA modeli geliştirmiştir. Bu modellerde metabolize edilebilir proteini kullanılmaktadır. Bu derleme makalesinde süt sığırlarının protein beslenmesi konusunda sadece rasyondaki HP dikkate alan basit besleme sisteminden sonra geliştirilmiş kompleks modelleri içeren MEP sistemlerinde yer alan prensipleri ve kavramları son gelişmelerle birlikte incelemek amaçlanmıştır.

Süt Sığırlarında Protein Metabolizması:

Ruminantlarda protein metabolizması tek mideli hayvanlara göre oldukça kompleks bir yapı içerir. MP sentezinin sınırları süt sığırlarında rasyonun sindirilebilirliğine bağlı olarak 400-1500 g/gün arasında değişebilir. Bakterilerde proteinin yüzdesi %38-55 arasında değişir. Rasyondaki protein ruminal sindirime direnç gösterir ve sindirilmeden ince bağırsaklara geçebilir. MP'lerin çok azı rumende parçalanırken, büyük çoğunluğu abomasuma geçer. Abomasumdaki asidik ortam bütün mikrobiyal aktiviteyi durdurur ve sindirim enzimleri proteinleri AA'lere parçalamaya başlar. İnce bağırsaklara gelen AA'lerin yaklaşık %60'ı bakteriyel proteinden %40'ı rumende parçalanmamış proteinlerden oluşur (Wattiaux, 2017).

Rumende Parçalanmayan ve Parçalanmayan

Protein: Rasyondaki RUP ve RDP'nin belirlenmesi oldukça önemlidir. Süt üretimindeki Azot (N) verimliliğinin optimum hale getirilmesi, rumende MP oluşumun desteklenmesi için yeterli miktarda RDP'nin sağlanması gerekmektedir. Laktasyondaki ineklerin

günlük tükettikleri yemlerin RDP değerlerinin *in vivo* olarak belirlenmesi gerekir. Fakat *in vivo* metotlar rutin kullanım için pratik değildir. *In vitro* metotları desteklemek amacıyla *in vivo* metotlar kullanılmalıdır.

In situ metotlar, yemlerin selüloz ve protein parçalanmasını değerlendirmede daha pratiktir. Bazı sınırlanmalara rağmen *in situ* naylon kese sonuçlarının *in vivo* belirlenen değerlerle ve protein parçalanmasının ekstrapolasyonlarıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Protein değerlendirme modellerini oluşturmak için *in situ* metot tercih edilmektedir (NRC, 2001).

Bazı yemlerde protein parçalanmasını hesaplamak için standart metot olarak kullanılan *in situ* naylon kese metodu ile doğru sonuç alınmadığından alternatif metot arayışları devam etmektedir (Broderick vd., 2016).

RUP değerlerini belirlemek için yapılan çalışmalarla, abomasum ve duodenuma kanül takılmış süt sığırları ve düvelerde MP ve RUP çıkışının ölçümleri yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda ince bağırsağa AA geçişleri hesaplanmıştır. MP'leri, RUP'dan ayırt etmek için kullanılan marker'lar nükleik asitler (RNA ve DNA), diaminopimelik asit (DAPA), amino etil fosfonik asit (AEPA) ve 15N izotopudur. Bu marker'lardan en iyi sonuç veren rumene 15N izotopu infüzyon metodudur. Sindirim sisteminde geçişleri hesaplamak için çok çeşitli farklı sıvı ve katı faz marker'ları kullanılmıştır. Son çalışmalarda rumende yem çıkışı hesaplamalarının, değişen vakum-basınç cihazına duyulan ihtiyacı ortadan kaldıran retüküler örnekleme kullanarak da yapılabileceği gösterilmiştir (Krizsan vd., 2010). Süt sığırları ve düveler için ince bağırsağa AA geçişini hesaplamak için geliştirilen modelleri makalelerin verilmiştir (NRC, 2001). White vd. (2017) laktasyonda ve kurudaki süt sığırları üzerinde yapılan besleme denemesini çalışmalarını inceleyerek hesaplama modellerini güncellemişlerdir.

Broderick ve Colombini (2010) tarafından ruminal protein parçalanması ve parçalanmadan rumenden geçen protein konusunda son yıllarda yapılan *in vitro* çalışmaların bir derlemesi yapılmıştır. Protein parçalanmasını değerlendirmek için izole edilmiş proteazları kullanmanın avantajı, rumen kanülü takılmış hayvanlara olan ihtiyacı ortadan kaldırmıştır. Genel olarak çözünebilir azottan ölçülen *in vitro* proteaz parçalanma oranları *in situ* parçalanma oranlarıyla karşılaştırıldığında korelasyonlar daha düşük bulunmuştur.

Mikrobiyal Protein ve Rumende Parçalanmayan

Proteinin Sindirilebilirliği: Rumenden alt sindirim sisteme geçen MP bakteri, protozoa ve mantar karışımıdır. Rumende 200'den fazla bakteri türü, 20'den fazla protozoa türü ve en az 12 mantar türü bulunur. MP'in ince bağırsağa geçen HP'in %50'sinden fazlasını oluşturduğu çok sayıda

araştırmayla ortaya konmuştur. Bu yüzden, mikroorganizmaların HP'nin fraksiyonunun kimyasal bileşimini ve bunların hayvana sağlanan AA kaynağına katkısını bilmek önemlidir (Schwab & Broderick, 2017). Sok vd. (2017) sığırlarda yapılan çalışmalarda elde edilen verileri kullanarak, sıvı ve katı fazda bulunan bakteriler ve protozoalar için ortalama AA kompozisyonunun değerlerini belirlemişlerdir. Bir çok besleme modelinde kullanılan bakterilerin %80 HP değerinden daha yüksek ortalama %82.4'lük bir HP değeri olduğu ortaya konmuştur.. Protozoa ve bakterilerde bulunan 10 esansiyel AA'ten 5'inin AA seviyelerinin farklı olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada belirlenen en önemli farkın, bakterilerde protozoalardan %42 daha düşük lizin konsantrasyonu un olduğunun ileri sürülmesidir. Schwab ve Broderick (2017), tarafından sıvı ve katı fazla ilgili bakteriler arasında bulunan küçük farkların bakteri ve protozoa arasındaki farklardan daha az olduğu belirtilmiştir. Schwab ve Broderick (2017), ayrıca rasyondaki AA'lerin 3 ana ruminal mikroorganizma popülasyonu üzerine etkisini daha iyi anlamak için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulduğunu önermişlerdir.

Rumende sentezlenen MP'in bağırsak sindirimini doğrudan belirlenmesinde birkaç yöntem kullanılmaktadır. Storm vd. (1983) koyunların abomasumlarına kademeli olarak intragastrik infüzyonla dondurularak kurutulmuş ruminal bakterilerin preparatlarını vermişlerdir. Bireysel AA'lerin gerçek sindirilebilirliği, ileuma geçen bakteriyel AA'lerin geçişinin ölçülmesiyle hesaplanmıştır. AA'lerin sindirilebilirliği %65 ve %88 arasında değişmiş ve ortalama olarak %85 olarak hesaplamıştır. Aynı metotları kullanarak koyunlarda konvansiyonel rasyonlarla beslemede, Tas vd. (1981) mikrobiyal AA sindirilebilirliğini %87 olarak hesaplamışlardır. Genellikle MP'in süt sığırları için en iyi kalitede olduğu kabul edilir. Bunun nedeni MP'in yüksek sindirilebilirliğinin olması ve yağsız vücut dokusu ile sütün protein yapısına benzer bir esansiyel AA kompozisyonunda olmasındandır. RUP'un AA kompozisyonu ve bağırsak sindirilebilirliği, RUP'un hayvan için besin değerini ortaya koyan en önemli parametrelerdir.

Metabolize Edilebilir Protein Sistemi: Süt sığırlarında protein beslemesi, rasyon HP'ini dikkate alan basit beslenme standartlarından, rumen amonyak, peptitler, RDP ve bağırsaktan emilebilir AA için ihtiyaçlarını dikkate alan kompleks beslenme modellerini içeren standartlara dönüştürülmüştür. Ancak rumen fermentasyonunun kompleksliği ve süt sığırının doku proteini ve AA metabolizması ile ilgili yeterli nicel verilerin bulunmaması nedeniyle, gelişmiş protein beslenme modellerinin oluşturulması gecikmiştir. CNCPS (O'Corner vd., 1993; Fox vd., 2004) ve CPM-Dairy sistemi

(Boston vd., 2000; Tedeschi vd., 2008) rasyonun AA'ini dengelenmesi için ortaya konulan ilk iki modeldir.

NRC (1989) protein verilerinin sınırlı olması ve yeni verilerin ortaya çıkmasıyla, NRC(2001) komitesi yeni bir AA modeli geliştirmiştir. NRC (2001)'de rasyonda RDP ve RUP ihtiyaçları MEP olarak ifade edilmektedir. NRC (2001)'de mikrobiyal HP net enerji (NE) tüketimi yerine toplam sindirilebilir organik madde tüketiminden hesaplanmaktadır. Bu iki fraksiyonun miktarlarının sabit olmadığını ve kuru madde tüketimi ve rasyon kompozisyonundan etkilendiğini varsayan yemlerin RDP ve RUP içeriğini hesaplamak için bir sistem kullanılmaktadır. Farklı sindirilebilirlik hesaplamalarının nedeni her bir yemin RUP fraksiyonuna bağlıdır. Endojen protein akışları hesaplanıp ve duodenal protein içindeki Esansiyel Amino Asit (EAA)'in profili belirlenerek EAA'in geçişi ve bunların MEP içindeki miktarı belirlenmektedir.

NRC (2001) komitesi mevcut verilerin AA ihtiyaçlarını hesaplamak için bir model oluşturmada yetersiz olduğunu açıklamıştır. Ancak, MEP'in EAA değerinin ideal profilini belirlemek için çalışmalar yapılarak ileri modellerin geliştirilmesi gerekliliğini belirtmiştir. NRC (2001) MEP'deki lizin ve metiyonin konsantrasyonunu hesaplayan bir model geliştirerek, modelde süt proteini ve süt verimindeki ölçülen değişikliklerle ilişkili doz-yanıt grafiklerini kullanarak ideal lizin ve metiyonin konsantrasyonlarının hesaplanabileceğini bildirmişlerdir.

Süt sığırlarında protein ve AA kullanımını tanımlayan bir çok besleme modeli ve bu modelleri değerlendiren çalışmalar yapılmıştır (Schwab vd., 2005; Pacheco vd., 2006; Tedeschi vd., 2014; Tedeschi vd., 2015). Tedeschi vd. (2014), 6 temel besleme modeli (çoğunlukla ampirik sistemler) ve 5 karmaşık besleme modeli (çoğunlukla mekanik sistemler) incelemesinden, daha karmaşık modellerin bazılarının süt üretimini tahmin etmek için üretim koşullarına göre değişeceğinden uygun olmadığı sonucuna varılmıştır.

Son yıllarda protein beslenmesi ile ilgili model geliştirme çalışmaları yapılmıştır. Pacheco vd. (2006) tarafından NRC(2001) modelinde hem RUP hem de MP fonksiyonlarının gerçek bağırsak sindirilebilirliğinin artırılması gerekliliğini belirtmiştir. Birçok protein modeli hala yaşama payı ve verim fonksiyonları için MEP ve AA kullanımının sabit verimlilikte olduğunu varsayılmakta olup bunun doğru olmadığı kanıtlanmıştır (Arriola Apelo vd., 2014). Örneğin; süt sığırları tarafından MEP kullanımının etkinliği MEP'deki EAA dengesinden etkilenmektedir (Chen vd., 2011; Osorio vd., 2013). NorFor besleme modeli (Volden, 2011) MEP ve metabolize edilebilir AA için değişken kullanım verileri ortaya koymuştur. Laktasyondaki süt sığırlarında AA'in

ara metabolizması üzerine; EAA'lerin iç organ dokuları ve meme bezine affinitesini ölçmeye odaklanan geniş bir araştırma yapılmıştır. Affinite ölçümleri EAA'in süt protein sentezi oranlarını düzenleyen sinyal yollarını aktive etme potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir (Arriola Apelo vd., 2014; Castro vd., 2016).

Metabolize Edilebilir Protein Kavramı: Uzun yıllar boyunca, rasyon proteininin karmaşık ruminal mikrobiyal ortamdaki yanıtı ile ilgili çok az bilgi bulunduğundan laktasyondaki süt sığırları için rasyonlarının hazırlanmasında HP değeri kullanılmıştır. Rumende sentezlenen yüksek kaliteli MP'nin, rumen fermentasyonundan kaçan RUP kalitesindeki eksiklikleri tamamlayacağı belirtilmiştir. Bununla birlikte, yüksek verimli süt sığırlarında MP sentezi, gerekli proteinin bir kısmını sağlar ve hayvanın protein ihtiyacının karşılanması için rasyona konulan protein kaynağının RUP oranının yüksek olması gerekir. HP sistemi, rumen mikroorganizmaların ihtiyaçları ile hayvanın ihtiyaçları arasında ayırım yapamaz. Bu nedenle, HP sistemine dayalı beslemeler hayvanda protein eksikliğine neden olabilir. Bu durum, mevcut protein değerlendirme sisteminin, eskilere göre birçok avantaja sahip olan MEP sistemine geçilmesi gerektiğini göstermektedir. MEP sistemi, rasyon yağlarının ve fermentasyon son ürünlerinin enerji miktarında azaltma yaparak mikrobiyal büyüme için mevcut olan fermente metabolize edilebilir enerjinin (FME) daha rasyonel bir şekilde tanımlanmaktadır (Beever & Cottrill, 1994). MEP sisteminin bir diğer avantajı, AA'lerin ince bağırsaktan net emiliminin, hayvanın ihtiyacına göre hesaplanabilmesine olanak sağlamasıdır (Beever & Cottrill, 1994). MEP sistemi ayrıca laktasyondaki hayvanlarda istenilen süt verimini almak için HP'e göre daha iyi bir hesaplama yöntemidir (Schwab & Ordway, 2004). Bu nedenle, konvansiyonel HP sisteminin MEP sistemi ile değiştirilmesi, bu sistemin ruminantların biyolojisine iyi uyması nedeniyle protein kullanımını ve rasyon formülasyonunu tanımlamak ve geliştirmek için daha iyi bir yöntem gibi görünmektedir (NRC, 2001).

Ruminantlarda protein beslenmesinde üç temel amaç vardır. İlk olarak, maksimum karbonhidrat ve MP sentezi için rumen mikroorganizmalarının (amonyak, AA'ler ve peptitler) RDP ihtiyaçlarını karşılamaktır. İkincisi, minimum RUP tüketimiyle yaşama payı, büyüme, optimum sağlık ve üreme için hayvanın MEP ihtiyaçlarını karşılamaktır. Son olarak, minimum rasyon HP'i ile istenen seviyede protein ve yağ içeren bir süt verimi için süt sığırının MEP ve AA ihtiyaçlarının karşılanmasıdır. İlk MEP sistemleri kavramı, Burroughs vd. (1974) ABD'de, Tarımsal Araştırma Konseyi (ARC) (ARC, 1984) ve Ulusal Araştırma Konseyi (NRC) (NRC, 1985) beslenme modelleriyle daha da değiştirilmiştir. Bununla birlikte, sistem 1992 Tarım ve Gıda Araştırma Konseyi'nin,

İngiltere Parlamentosu sistemi olarak bilinen Teknik Komite Raporunda (AFRC, 1992) tam olarak açıklanmaktadır. İnce bağırsakta sindirilmiş gerçek protein (PDI) adı verilen benzer bir sistem Fransa'da, Hollanda'da Hollanda MEP sistemi (DVE/OEB sistemi) geliştirilmiştir. Tüm bu sistemlerde temel ilke, bir ruminantın protein ihtiyaçlarının en mantıklı olarak iki kısımda dikkate alınmasıdır, bunlar: rumen mikroorganizmalarının ve hayvanın protein ihtiyacıdır. Süt sığırları için MEP'in besleyici değeri, esansiyel AA'ler, özellikle lizin ve metiyonin profiliyle belirlenir (Whitehouse vd., 2009). Yapılan çalışmaları, süt veriminin ve protein değerinin MEP'deki AA'lerin profilini iyileştirerek, rasyondaki fazla protein miktarını azaltarak ve rasyondaki fermente edilebilir karbonhidrat miktarını artırarak artırılabilirliğini göstermiştir (Rius vd., 2010; Aboozar, 2012; Lee vd., 2012).

Süt Sığırlarında Metabolize Edilebilir Protein İhtiyaçları: MEP ihtiyaçları, iki kaynaktan yani sindirilebilir MP ve RUP'dan karşılanmaktadır. NRC (2001), süt sığırlarında MEP ihtiyaçlarının hesaplanmasında faktöriyel yaklaşım benimsenmiştir.

Ortalama 16 aylık olan Nellore düvelerinde, boğalarda ve kastre edilmiş boğalarda MEP ihtiyaçları değerlendirilmiştir (Robson vd., 2007). Nellore sığırlarının yaşama payı için MEP ihtiyaçlarının 4,0 g/kg CA^{0.75} olduğu hesaplanmıştır.

Yem Proteinin Metabolize Edilebilir Proteine Dönüşümü: Raggio vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, farklı protein seviyelerine sahip rasyonlardan MEP'in kullanılabilirliği belirlenmiştir. Izoenerjik üç rasyonla MEP miktarlarını hesaplamışlardır. % HP seviyeleri %12,7, %14,7 ve %16,6 olan bu rasyonlardan gelen MEP değerleri sırasıyla 1992, 2264 ve 2501g/gün olarak belirlenmiştir. Çin Holştayn ineklerinde MEP miktarını değerlerini %HP içerikleri %11,9, %13,0, %14,2 ve %15,4 olan dört farklı rasyon için değerlendirilmiştir (Wang vd., 2007). Her bir KM'de MEP miktarı farklı HP seviyeleri için sırasıyla %8,3, %8,9, %9,7 ve %10,4'üne karşılık 1,75 kg/gün, 1,91 kg/gün, 2,09 kg/gün ve 2,16 kg/gün bulunmuştur. Das (2012) tarafından CNCP sistemi kullanarak, %HP değerleri sırasıyla %13,5, %15 ve %16,5 olan 3 farklı Total Mixed Ration (TMR)'in hesaplanan MEP içeriğinin sırasıyla %7,7, %8,69 ve %9,28 bulunduğu yayınlanmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde rasyonun HP düzeyi ile MEP kullanılabilirliği arasında doğrusal bir artışın olduğu görülmektedir.

Kanola küspesi (sarı çekirdekli ve kahverengi çekirdekli) ve preslenmiş kanola küspesinin MEP seviyeleri hesaplanarak üç ana MEP sistem (PDI, DVE/OEB ve NRC) ile karşılaştırılmıştır. Sarı çekirdekli kanola küspesinin MEP değeri üç model ile de en yüksek bulunmuştur(sırasıyla DVE/OEB, 312 ve 192 ve 128

g/kgKM; NRC, 287 ve 193 ve 168 g/kgKM; PDI, 264 ve 168 ve 137 g/kgKM). Biyoetanol işleme ünitelerinden elde edilen yan ürünlerin MEP değerleri hem DVE/OEB hem de NRC sistemleri ile değerlendirilmiştir ve iki modelden hesaplanan MEP değerleri birbirine çok yakın bulunmuştur (Nuez Ortin & Yu, 2010).

Chase (2011), altı ticari süt sığırtı rasyonunda bulunan MEP değerini değerlendirmiştir. %14,3, %15,9, %15,7, %15,8, %15,5 ve %16,2 HP' ine sahip olan rasyonlar ile beslendiğinde sırasıyla 2600, 3322, 2710, 2744, 2720 ve 2779 g/gün MEP değerleri hesaplanmıştır ve süt sığırtılarından 35-50kg süt/gün verim alınmıştır. Süt rasyonlarının MEP değerleri sırasıyla %10,5, %12,2, %11,1, %11,2, %11,1 ve %12,1 hesaplanmıştır. Huhtanen vd. (2011), kanola küspesi, muamele edilmiş kanola küspesi, soya küspesi ve soya küspesi+ balık unu için MEP değerlerini sırasıyla 92, 90, 95 ve 96 g/kg hesaplamışlardır.

Das vd. (2014) *in situ* naylon kese metodu kullanarak dokuz tropik ruminant yeminin MEP seviyesini belirlemişlerdir. Mısır gevreği, yer fıstığı küspesi, hardal küspesi, pamuk tohumu küspesi, yağsız pirinç kepeği, buğday kepeği, İskenderiye üçgülü, mısır ve sorgumun MEP seviyelerini sırasıyla 95,26, 156,41, 135,21, 125,06, 101,68, 107,11, 136,81 ve 76,65 g/kgKM olarak hesaplamışlardır. Ayrıca, yemin MEP değerinin protein parçalanma özelliklerine tamamen bağlı olduğundan HP içeriğindeki kadar sabit olmadığını ortaya koymuşlardır.

Süt Sığırtılarında Metabolize Edilebilir Proteinin Verime Etkisi: Whitlock vd. (2002) meme gelişimi üzerindeki etkisini görmek için prepubertal Holştayn düvelere (ortalama CA 134 kg) artan protein oranları içeren rasyonları TMR olarak vermişlerdir. Üç deneme rasyonu, benzer enerji düzeyi ile 2,85 Mcal/kgKM ME, ancak % HP değerleri düşük, orta ve yüksek olarak sırasıyla %13,7 %16,2 ve %18,8 olarak hazırlanmıştır. Bu rasyonların %HP seviyelerine göre hayvana sırasıyla %10,6, %11,6 ve %12,65 oranında MEP sağlamışlardır. Meme gelişimi, artan rasyon MEP düzeyi ile daha yükselmiştir.

Raggio vd. (2004) üç farklı MEP düzeyindeki rasyonun altı adet birden fazla doğum yapmış laktasyondaki holştayn süt sığırtılarında süt verimi ve bileşenleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Süt verimi, artan MEP seviyeleriyle doğrusal olarak artmıştır. Süt HP konsantrasyonu ve her bir süt proteini fraksiyonunun miktarları, artan MEP seviyeleriyle doğrusal olarak artmıştır. Süt HP konsantrasyonu doğrusal olarak artarken gerçek protein konsantrasyonu azalmıştır. Süt yağı konsantrasyonu doğrusal olarak azaldığı ve en yüksek MEP seviyesinde yağ veriminin düştüğü belirlenmiştir.

Wang vd. (2007) 40 adet Çin Holştayn süt sığırtında dört MEP düzeyinin süt üretimi ve N kullanımını üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Hayvanlara %8,3, %8,9, %9,7 ve %10,4 olmak üzere 4 farklı MEP

seviyelerinde rasyonlar verilmiştir. %9,7 ve %10,4 MEP düzeylerinde süt verimi ve süt proteini yüzdesinin arttığı ortaya konulmuştur. Sonuç olarak Çin Holştayn süt sığırtlarında 30 kg süt/gün verim almak için %9,7 MEB içeren rasyonun en uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Huhtanen vd. (2008) silajda çözünür N bileşenlerinin MEP konsantrasyonu üzerindeki etkisini değerlendirmek için meta-analiz yöntemleri geliştirmişlerdir. Yöntemde, artan silaj protein çözünürlüğünün, düşük süt proteini verimi ve N kullanım etkinliği ve artan MUN konsantrasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Silaj azotundaki çözünür amonyak olmayan azotun oranı, MEP verimi üzerinde ve dolayısıyla gerçek silaj konsantrasyonu üzerinde etkili olmamıştır.

Rius vd. (2010) laktasyondaki süt sığırtılarında azot veriminin belirlenmesinde enerji etkileşimi ve öngörülen MEP değerlerini araştırmış ve iki faktör arasında yüksek bir korelasyon bulmuşlardır.

SONUÇ

Sonuç olarak süt sığırtılarında protein ve AA beslemesinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Türkiye dahil dünya çapında çoğu yem üretici ve hayvan besleme uzmanı, proteince zengin yemleri ve hayvan ihtiyaçlarını değerlendirirken hala sadece HP' i dikkate almaktadır. Ancak, protein ve AA beslenmesi konusunda yapılan araştırmalar düşük proteinli rasyonlarla beslemeye odaklanmıştır ve bu durumun değişmesi gerekmektedir. Odaklanmanın nedenleri arasında düşük yem maliyeti, gelişmiş üretim verimliliği ve rasyon protein kullanımı, daha yüksek üretim ve çevre sorunları yer almaktadır. Hayvanları belirli bir zamanda doğru miktarda spesifik rasyonlarla besleyerek, üretim maliyetleri de önemli ölçüde azaltılabilir. Bu nedenle, süt sığırtılarında protein rasyonunu RDP, RUP ve MEP cinsinden dengelemek, besin maddelerinin verimli kullanımı ve süt üretimini en üst düzeye çıkarmak için mümkün olan en iyi yoldur. Bu nedenle besleme stratejilerinden protein ve AA ihtiyaçlarını belirleyen modellerin iyileştirilmesi, MP sentezinin etkinliğinin artırılması ve metabolizmada geri dönüştürülen azotun yakalanması ve protein ve AA katkılarının daha güvenilir hale gelmesi konusunda araştırmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Aboozar, M. (2012). Impacts of dietary metabolizable protein on performance and ruminal parameters of Holstein cows at early lactation, *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 2(2), 102-108. DOI: http://www.roavs.com/pdf-files/Issue_2_2012/115-121.pdf

- Arriola Apelo, S.I., Knapp, J.R. & Hanigan, M.D. (2014).** Invited review: Current representation and future trends of predicting amino acid utilization in the lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science*, *97*, 4000-4017. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7392>
- Beever, D.E. & Cottrill, B.R. (1994).** Protein systems for feeding ruminant livestock: A European assessment. *Journal of Dairy Science*, *77*(7), 2031-2043. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77148-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77148-4)
- Boston, R.C., Fox, D.G., Sniffen, C.J., Janczewski, R., Munsen, R. & Chalupa, W. (2000).** Modelling Nutrient Utilization in Farm Animals, In: McNamara, J. P., France, J., & Beever D. (Ed), *The conversion of a scientific model describing dairy cow nutrition and production to an industry tool: The CPM Dairy project*, 361-377p, CABI Publishing, Oxford, UK.
- Broderick, G.A. & Colombini, S. (2010).** In vitro methods to determine rate and extent of ruminal protein degradation, In: Crovetto, G. M. (Ed), *In Energy and Protein Metabolism and Nutrition*, 691-702p, EAAP Publication No. 127 Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
- Broderick, G.A., Colombini, S., Costa, S., Karsli, M.A. & Faciola, A.P. (2016).** Chemical and ruminal in vitro evaluation of Canadian canola meals produced over 4 years. *Journal of Dairy Science*, *99*, 7956-7970. DOI: [10.3168/jds.2016-11000](https://doi.org/10.3168/jds.2016-11000)
- Burroughs, W., Trenkle, A. & Vetter, R.L. (1974).** A system of protein evaluation for cattle and sheep involving metabolizable protein (amino acids) and urea fermentation potential of feedstuffs. *Veterinary Medicine Small Animal Clinician*, *69*(6), 713. DOI: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4494868>
- Castro, J.J., Arriola Apelo, S.I., Appuhamy, J.A.D.R.N. & Hanigan M.D. (2016).** Development of a model describing regulation of casein synthesis by the mammary target of rapamycin (mTOR) signaling pathway in response to insulin, amino acids, and acetate. *Journal of Dairy Science*, *99*, 6714-6736. DOI: [10.3168/jds.2015-10591](https://doi.org/10.3168/jds.2015-10591)
- Chase, L.E. (2011).** Maintaining milk yield while lowering dietary protein content. *WCDS Advances in dairy technology*, *23*, 153-164. DOI: https://wcds.ualberta.ca/wcds/wp-content/uploads/sites/57/wcds_archive/Archive/2011/Manuscripts/Chase.pdf
- Chen, Z.H., Broderick, G.A., Luchini, N.D., Sloan, B.K. & Devillard, E. (2011).** Effect of feeding different sources of rumen-protected methionine on milk production and N-utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *94*, 1978-1988. DOI: [10.3168/jds.2010-3578](https://doi.org/10.3168/jds.2010-3578)
- CNCP. (2003).** The net carbohydrate and protein system for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. CNCPS Version 5.0., Cornell University, 130 Morrison Hall, Ithaca, New York.
- Das, L.K. (2012).** Metabolizable protein availability from different feeds and the effects of its graded levels in the diet on nutrient utilization in growing Sahiwal calves. M.V.Sc. Thesis, Division of Dairy Cattle Nutrition, National Dairy Research Institute, Karnal, Haryana, India
- Das, L.K., Kundu, S.S., Kumar, D. & Datt, C. (2014).** The evaluation of metabolizable protein content of some indigenous feedstuffs used in ruminant nutrition. *Vet World*, *7*(4), 257-261. DOI: <http://www.veterinaryworld.org/Vol.7/April-2014/14.pdf>
- Fox, D.G., Tedeschi, L.O., Tylutki, T.P., Russell, J.B., Van Amburgh, M.E., Chase, L.E., Pell, A.N. & Overton, T.R. (2004).** The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion. *Animal Feed Science and Technology*, *112*, 29-78. DOI: [10.1016/j.anifeeds.2003.10.006](https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2003.10.006)
- Huhtanen, P., Rinne, M. & Nousiainen, J. (2008).** Effects of silage soluble nitrogen components on metabolizable protein concentration: A meta-analysis dairy cow production experiments. *Journal of Dairy Science*, *91*(3), 1150-1158. DOI: [10.3168/jds.2007-0323](https://doi.org/10.3168/jds.2007-0323)
- Huhtanen, P., Hetta, M. & Swensson, C. (2011).** Evaluation of canola meal as a protein supplement for dairy cows: A review and a meta-analysis. *Canadian Journal of Animal Science*, *91*, 529-543.
- Krizsan, S.J., Ahvenjärvi, S., Volden, H. & Broderick, G.A. (2010).** Estimation of rumen outflow in dairy cows fed grass silage-based diets by use of reticular sampling as an alternative to sampling from the omasal canal. *Journal of Dairy Science*, *93*, 1138-1147. DOI: [10.3168/jds.2009-2661](https://doi.org/10.3168/jds.2009-2661)
- Lee, C., Hristov, A.N., Heyler, K.S. & Cassidy, T.W. (2012).** Effect of metabolizable protein supply and amino acid supplementation on nitrogen utilization, milk production, and ammonia emission from manure in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, *95*(9), 5253-5268. DOI: [10.3168/jds.2012-5366](https://doi.org/10.3168/jds.2012-5366)
- NRC. (2001).** Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. National Academy Press, Washington, DC.
- Nuez Ortin, W.G & Yu, P. (2010).** Modeling the metabolic characteristics of proteins in dairy cattle from co-products of bioethanol processing: Comparison of the NRC 2001 model with DVE/OEB system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *91*(3), 405-411. DOI: [10.1002/jsfa.4199](https://doi.org/10.1002/jsfa.4199)
- Osorio, J.S., Ji, P., Drackley, J.K., Luchini, D. & Loor, J.J. (2013).** Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition period benefits postpartal cow performance and neutrophil function. *Journal of*

- Dairy Science*, 96, 6248-6263. DOI: [10.3168/jds.2012-5790](https://doi.org/10.3168/jds.2012-5790)
- Pacheco, D., Schwab, C.G., Berthiaume, R., Raggio, G. & Lapierre, H. (2006).** Comparison of net portal absorption with predicted flow of digestible amino acids: Scope for improving models. *Journal of Dairy Science*, 89, 4747-4757. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72524-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72524-3)
- Raggio, G., Pacheco, D., Berthiaume, R., Loblely, G.E. & Pellerin, D. (2004).** Effect of level of metabolizable protein on splanchnic flux of amino acids in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(10), 3461-3472. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73481-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73481-5)
- Rius, A.G., McGilliard, M.L., Umberger, C.A. & Hanigan, M.D. (2010).** Interactions of energy and predicted metabolizable protein in determining nitrogen efficiency in the lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 93(5), 2034-2043. DOI: [10.3168/jds.2008-1777](https://doi.org/10.3168/jds.2008-1777)
- Robson, G.L.V., Filho, S.C.V., Diniz, R.V.F., Luciana, N.R., Veiga, P.P.R. & de Souza M.A. (2007).** Effects of increasing dietary crude protein levels on nitrogen balance and metabolizable protein requirements for maintenance in Nellore cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(4), 1212-1217. DOI: <https://www.scielo.br/pdf/rbz/v36n4s0/30.pdf>
- Schwab, C.G. & Ordway, R.S. (2004).** Balancing diets for amino acids: Implications of production efficiency and feed costs. Proceedings of Pennsylvania State Dairy Cattle Nutrition Workshop, Grantville, PA. 1-16p.
- Schwab, C.G., Huhtanen, P., Hunt, C. & Hvelplund, T. (2005).** Nitrogen requirements of cattle, In: Pfeffer, E. & Hristov, A. (Ed), *Nitrogen and Phosphorus Nutrition of Cattle*, 13-70p, CABI Publishing, Wallingford, UK. Schwab, C.G., L.D.
- Schwab, C.G. & Broderick, G.A. (2017).** A 100-Year Review: Protein and amino acid nutrition in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100, 10094-10112. DOI: [10.3168/jds.2017-13320](https://doi.org/10.3168/jds.2017-13320)
- Sok, M., Ouellet, D.R., Firkins, J.L., Pellerin, D. & Lapierre, H. (2017).** Amino acid composition of rumen bacteria and protozoa in cattle. *Journal of Dairy Science*, 100, 5241-5249. DOI: [10.3168/jds.2016-12447](https://doi.org/10.3168/jds.2016-12447)
- Storm, E., Brown, D.S. & Ørskov, E.R. (1983).** The nutritive value of rumen micro-organisms in ruminants. 3. The digestion of microbial amino and nucleic acids in, and losses of endogenous from, the small intestine of sheep. *British Journal of Nutrition*, 50, 479-48. DOI: [10.1079/BJN19830116](https://doi.org/10.1079/BJN19830116)
- Tas, M.V., Evans R.A. & Axford, R.F.E. (1981).** The digestibility of amino acids in the small intestine of the sheep. *British Journal of Nutrition*, 45, 167-174. DOI: [10.1079/BJN19810089](https://doi.org/10.1079/BJN19810089)
- Tedeschi, L.O., Chalupa, W., Janczewski, E., Fox, D.G., Sniffen, C., Munson, R., Kononoff, P.J. & Boston R. (2008).** Evaluation and application of the CPM Dairy Nutrition model. *The Journal of Agricultural Science*, 146, 171-182. DOI: [10.1017/S0021859607007587](https://doi.org/10.1017/S0021859607007587)
- Tedeschi, L.O., Cavalcanti, L.F.L., Fonseca. M.A., Herrero, M. & Thornton, P.K. (2014).** The evolution and evaluation of dairy cattle models for predicting milk production: An agricultural model intercomparison and improvement project (AgMIP) for livestock. *Animal Production Science*, 54, 2052-2067.
- Tedeschi, L.O., Fox, D.G., Fonseca, M.A. & Cavalcanti, L.F.L. (2015).** Invited Review: Models of protein and amino acid requirements for cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 44, 109-132. DOI: [10.1590/S1806-92902015000300005](https://doi.org/10.1590/S1806-92902015000300005)
- Volden, H. (2011).** NorFor–The Nordic Feed Evaluation System. EAAP Publication No. 130, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
- Wang, C., Liu, J.X., Yuan, Z.P., Wu, Y.M., Zhai, S.W. & Ye, H.W. (2007).** Effect of level of metabolizable protein on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90(6), 2960-2965. DOI: [10.3168/jds.2006-129](https://doi.org/10.3168/jds.2006-129)
- Wattiaux, M.A. (2017).** Protein Metabolism in Dairy Cows. Babcock Institute for International Dairy Research and Development. University of Wisconsin-Madison <https://federated.kb.wisc.edu/images/group226/52745/5.ProteinMetabolismInDairyCows.pdf>. Erişim tarihi: 27.02.2020.
- White, R.R., Roman-Garcia, Y., Firkins, J.L., Kononoff, P., VandeHaar, M.J., Tran, H., McGill, T. & Garnett, R. (2017).** Hanigan MD. Evaluation of the National Research Council (2001) dairy model and derivation of new prediction equations. 2. Rumen degradable and undegradable protein. *Journal of Dairy Science*, 100, 3611-3627. DOI: [10.3168/jds.2015-10800](https://doi.org/10.3168/jds.2015-10800)
- Whitehouse, N., Schwab, C., Luchini, D., Tylutki, T. & Sloan, B. (2009).** Comparison of optimal lysine and methionine concentrations in metabolizable protein estimated by the NRC (2001), CPM-Dairy (v.3.0.10) and ATMS. Cattle (v.2.1.1) models. *Journal of Animal Science*, 92 (Suppl. 1), 103. (Abstr.)
- Whitlock, B.K., Vandehaar, M.J., Silva, L.F.P. & Tucker, H.A. (2002).** Effect of dietary protein on prepubertal mammary development in rapidly growing dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 85(6), 1516-1525. DOI: [10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74221-5](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74221-5)



Mollusca Fauna of the Çoruh River and Its Tributaries

Ahmet Mutlu GÖZLER* Hazel BAYTAŞOĞLU

Recep Tayyip Erdogan University, Faculty Fisheries and Aquatic Science, 53100, Rize, Turkey

Geliş/Received: 22.01.2020

Kabul/Accepted: 31.05.2020

How to cite: Gözler, A.M. & Baytaşoğlu, H. (2020). Mollusca Fauna of the Çoruh River and Its Tributaries. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 185-190.

Atıf yapmak için: Gözler, A.M. & Baytaşoğlu, H. (2020). Çoruh Nehri ve Kollarının Mollusca Faunası. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 185-190.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0991-6395>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9959-1829>

***Corresponding author's:**

Ahmet Mutlu GÖZLER
Recep Tayyip Erdogan University, Faculty
Fisheries and Aquatic Science
✉: ahmet.gozler@erdogan.edu.tr

Mobile telephone : +90 (542) 896 78 48
Telephone : +90 (464) 223 33 85
Fax : +90 (464) 223 41 18

Abstract: In this study, Mollusca (Gastropoda, Bivalvia) samples obtained from different distributaries drains the Çoruh River Basin were examined. It was aimed to contribute to the knowledge of mollusc species distribute in inland waters of Turkey. The samples were taken from 21 different locations at different times. At the end of the study, a total of 9 species of *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771, *Gyraulus piscinatum* Bourguignat, 1852, *Pisidium casertanum* Poli, 1791, *Planorbis intermixtus* Mousson, 1874, *Galba truncatula* O.F. Müller, 1774, *Valvata piscinalis* Müller, 1774, *Valvata macrostoma* Morch, 1864, *Radix labiata* Rössmasler, 1835, *Ancylus fluviatilis* Schütt, 1964 were determined. The identified species were recorded for the first time for the Çoruh Basin.

Keywords: Bivalvia, Çoruh, Gastropod, stream systems, Turkey.

Çoruh Nehri ve Kollarının Mollusca Faunası

***Sorumlu yazar:**

Ahmet Mutlu GÖZLER
Recep Tayyip Erdogan University, Faculty
Fisheries and Aquatic Science, 53100,
Rize, Turkey
✉: ahmet.gozler@erdogan.edu.tr

Cep telefonu : +90 (542) 896 78 48
Telefon : +90 (464) 223 33 85
Fax : +90 (464) 223 41 18

Öz: Bu çalışmada, Çoruh Nehir Havzasını besleyen farklı kollarından elde edilen Mollusca (Gastropoda, Bivalvia) örnekleri incelenmiştir. Bu sayede Türkiye içsularında dağılım gösteren Mollusca türleri hakkındaki bilgilere katkı sağlanması amaçlanmıştır. Örnekler 21 farklı istasyondan farklı tarihlerde alınmıştır. Çalışmanın sonunda toplam 9 tür *Dreissena polymorpha* Pallas, 1771, *Gyraulus piscinatum* Bourguignat, 1852, *Pisidium casertanum* Poli, 1791, *Planorbis intermixtus* Mousson, 1874, *Galba truncatula* O.F. Müller, 1774, *Valvata piscinalis* Müller, 1774, *Valvata macrostoma* Morch, 1864, *Radix labiata* Rössmasler, 1835, *Ancylus fluviatilis* Schütt, 1964 tespit edilmiştir. Tespit edilen türler Çoruh Havzası için ilk kez kaydedilmiştir.

Anahtar kelimeler: Akarsu sistemleri, bivalvia, Çoruh, Gastropoda, Türkiye.

INTRODUCTION

Molluscs are the richest group after arthropods in terms of number of species. It is known that there are more than 35 thousand fossil records, known for the presence of over 65 thousand living, strongly calcified crusts. Gastropoda and Bivalvia are common macrobenthic groups in both aquatic and terrestrial ecosystems. While some of these groups are considered expensive foods, they contribute to the economy by the use of rare shell and pearl obtained from Bivalvia as natural ornaments (Salman, 2006). In their aquatic habitats, being food for some living organisms such

as fish, waterfowl and water mammals, being bioindicators in environmental changes and being one of the fossil groups used to determine the geological developments of the World, they are regarded as important in scientific studies (Öktener, 2004).

Çoruh River, which is accepted as one of the fastest flowing rivers of Turkey and one of the 10 fastest rivers in the world, consists of the lower Çoruh basin affected by the humid and temperate climate of the Black Sea and the upper Çoruh basin affected by the harsh climate of Eastern

Anatolia. Çoruh River Valley, which is on the migration route of birds, host endemic many plant and animal species and is home to diverse ecosystems Turkey's first and only biosphere reserve area (Camili-Macahel), 2 National Parks (Hatila Valley National Park, Karagöl Sahara National Park), 1 Nature Park (Borçka Karagöl Nature Park) and 3 Nature Protection Areas (Çamburnu Nature Protection Area, Camili-Efeler Nature Protection Area, Camili-Gorgit Nature Protection Area) (Yılmaz, 2010).

The first study was conducted at 1841 by Recluz so as to determine the diversity of mollusca species in Turkey's inland water. In the following years, studies on the subject continued increasingly (Gürlek et al., 2019; Kalyoncu et al., 2008; Şereflişan et al., 2009; Koşal Şahin, 2013; Kılıçaslan and Özbek, 2010; Koşal Şahin and Zeybek, 2016; Odabaşı et al., 2015; Öktener, 2004; Yıldırım et al., 2006;). However, when the literature is examined, it is seen that these studies focus on the basins in Western Anatolia, Mediterranean and Aegean regions and there is no current study on the basin in Çoruh River. The aim of this study is to contribute to the determination of Gastropoda and Bivalvia fauna of the Çoruh Basin.

MATERIAL AND METHODS

Study Area: Çoruh River, which has rich water resources and is one of the 25 river basins of Turkey, rises from the west of the Mescit Mountains at an altitude of 3000 m and continues its flow towards the Bayburt plateau. The river, which makes a sharp turn eastward from Bayburt plateau, joins with Tortum Stream and Oltu Stream and continues to flow northward through Yusufeli (Artvin) district. Çoruh River, which joins with many branches in the direction of flow, leaves the borders of our country near Muratlı town. Near Batumi, the capital of Ajara, a semi-autonomous province of Georgia, it flows into the Black Sea via the delta formed by alluvium. (Akpınar et al., 2009).

In this study, sampling was carried out in 21 stations selected from Çoruh River and its tributaries. The diagnoses of Gastropoda and Bivalvia species were obtained from samples which had previously taken at different times. The map showing the sampling stations is given in Figure 1. QGIS 2.18 geographic information request was used for mapping these locations.

Sampling: Gastropoda and Bivalvia (Mollusca) samples were collected during field studies. A hand net of 30x30 cm and 250 µm mesh size was used for the collection of biological samples. Collets and straws were used to remove some organisms under the stones. The first fixations of the collected samples with 4% formaldehyde were made in the field and information such as date, name of the station, coordinate, altitude, and name of the province where it was located were recorded. Information such as coordinates and

sampling dates of the stations are given in Table 1. The samples were washed with plenty of water to remove formaldehyde and 4 mm-250 µm mesh size was used to facilitate separation. The separated samples were placed into 70% alcohol and made ready for diagnosis. The samples were examined using a loop and under Nikon SMZ 800N microscope respectively. Molluscs were identified according to Bilgin and Şeşen (1991), Bilgin (1969, 1973;1980), Schütt (1964;1965;1982) and Glöer et al., (1998).

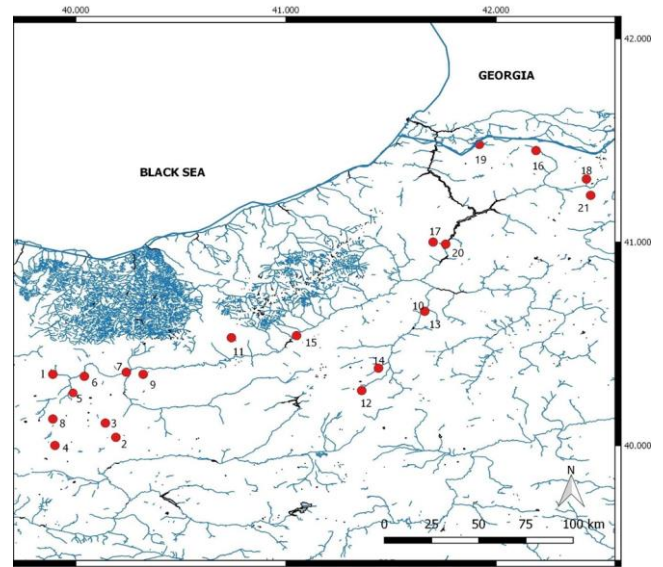


Figure 1. Map of Stations.

RESULTS

Dreissena polymorpha (Pallas, 1771)

Habitat preferences in this study: Two sampling points were found in Tortum Waterfalls. One of the stations where the species was identified was a pond habitat formed on the upper part of the waterfall, and the other one was a stony and vegetated area. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Büyük Akgöl, Lake Abant, Yeniçağa Lake, Ceyhan River Basin (Gürlek et al., 2019), Sapanca Lake, Apolyont Lake (near Uluabat), Beyşehir Lake, Eğirdir Lake (Kinzelbach, 1986), Sapanca Lake (Koşal Şahin and Yıldırım, 2007).

Planorbis intermixtus (Mousson, 1874)

Habitat preferences in this study: The vegetated areas of the rivers and stagnant areas with pond character were encountered. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Doğu Beyazıt (Ağrı) mashes, Lake Sapanca (Gürlek et al., 2019; Arslan et al., 2017).

Euglesa casertana (Poli, 1791)

Habitat preferences in this study: Stony-vegetated areas of streams and stagnant areas such as fountain troughs,

irrigation canals and ponds. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Çarşamba Stream, Beşgöl Spring, Sarıkum Lake, Karaçay (Finike), Kırkgöz (Antalya), Karıncalı Lake, Susam Lake, Özbek Village, Pınarlı Stream, Urla (İzmir), Gülbahçe Village Stream, Muradiye (Manisa), Göksu Spring, Kadiovacık Fountain, Çeşme (İzmir), Oğlananası Pond, İzmir-Menderes, Sarıçay Creek, Akhisar Reservoir, Istranca Stream, Lake Eğirdir, Kovada Channel, Gölbaşı Lake, Yuvarlakçay (Köyceğiz), Lake Acarlar, Gölbaşı Lake, Azaplı Lake, İnekli Lake (Gürlek et al., 2019).

***Gyraulus piscinarum* (Bourguignat, 1852)**

Habitat preferences in this study: Stony-vegetated areas of streams and stagnant areas such as fountain troughs and irrigation canals. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Lake Gölbaşı, Lake Beyşehir, Yazır Lake, Duruca Lake, Limonlu (Lamos) Stream (Mersin), Ceyhan River Basin (Gürlek et al., 2019).

***Valvata macrostoma* (Morch, 1864)**

Habitat preferences in this study: It was found in the area where the water accumulates but the flow continues. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Işıklı Lake, Lake Gölbaşı (Gürlek et al., 2019).

***Ancylus fluviatilis* Müller, 1774**

Habitat preferences in this study: Stony and vegetation was found in areas with higher altitude. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Ayazma Stream (Çanakkale), Girne Stream (Edremit), Koçak Stream (Umurlu), Kestane Water Ditch (Buldan), Bakaran Village Stream (Beyşehir), Taşlıca Village (Beyşehir), Aykırcahanı Village Stream (Elmalı), Karaçay Stream (Finike), Çarşamba Stream, Antalya, Lake Eğirdir, İzmir, Ceylanpınar (Urfa), Başpınar Village (Tefenni), Ağlasun Dereköy, Erciyes Mountain (Kayseri), Eğirdir, Değirmendere Stream, Özbek Village, Pınarlı Stream, Yiğitler Stream, Kemalpaşa-İzmir, Seferihisar Reservoir, Seferihisar (İzmir), Malatya, Değirmendere Stream, Büyükmenderes River, Yuvarlakçay (Köyceğiz), Ceyhan River Basin (Gürlek et al., 2019).

***Galba truncatula* (O.F.Müller, 1774)**

Habitat preferences in this study: Stony and vegetation was found in areas with higher altitude. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Lake Sapanca, Lake Beyşehir (Konya), Antalya, Konne Spring (Eğirdir, Isparta), Lake Eğirdir (Isparta), İzmir, Ereğli-Zonguldak, Toros Mountains, Bucak Yazıpınar Village Irrigation Channel, Pınarbaşı Spring, Bucak, Kuşbaba Village (Başgöz), Ağlasun Stream, Soğanlı Village, Örencik Village, Kurna Village, Terzipınar- Gölhisar, Kozpınar- Gölhisar, Çataloluk Spring, İncilipınar-Gölbaşı, Terkos Lake, Erciyes Mountain,

Istranca Stream, Sarıçay Creek, Malatya, Tunceli, Limonlu Stream- Mersin, Karasu (Sakarya River), Eleşkirt, Dolutaş Village (Ağrı), Gölbaşı Lake, Azaplı Lake, İnekli Lake, Ceyhan River Basin (Gürlek et al., 2019).

***Radix labiata* (Rossmasler, 1835)**

Habitat preferences in this study: Stony and vegetation were found in areas with higher altitude. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: Hacılar Village, Lake Gölbaşı (Hatay), Lake Sapanca, Karacaören(Kargı) Dam Lake, Ağlasun Başköy, Burdur Lake, Örencik Village, Kocapınar Village, Düğer Village, Hacılar Village, Pınarbaşı Village, Karataş Lake, Çataloluk Spring, İncilipınar (Gölbaşı Village), Terkos Lake, Akyaka Kadın River Branch, Down Sakarya River (Karasu), Değirmendere Stream (Tunceli), Lake Eğirdir, Lake Kovada, Abant Lake, Emir Lake (Antakya), Akşehir Lake, Apolyont Lake, Sapanca Lake, Abant Lake, Marmara Lake, Köprüören Stream (Tavşanlı), Hamidiye Village Stream (Eskişehir-Konya Yolu), Çavuşçu Lake, Eber Lake, Deveönü, Köşkpınar Spring, Eğirdir Lake, Hendek (Beyşehir), Yılanlı Sazı Pond, Bakaran Village Stream, Akgöl (Gebekirse), Ağlasun (Burdur), Karataş Lake (Burdur), Akyaka (Muğla), Kızılcahamam, Beşgöl Spring, Balık Lake, Uzun Lake, Gıcı Lake, Cernek Lake, Derbent Dam Lake, Lake Sapanca (Sakarya), Antalya, Konne Spring (Eğirdir), Lake Eğirdir, İzmir, Isparta, Karınlake, Karıncalı Göl, Susam Lake, İlvat Lake, Sülüklü Lake, Erciyes Mountain, Eğirdir, Güzelhisar Reservoir, Aliğa (İzmir), Özbek Village, Pınarlı Stream, Urla (İzmir), Karagöl Lake, Seferihisar İ (İzmir), Göksu Springs, Muradiye (Manisa), Oğlananası Pond, Menderes (İzmir), Sarıçay Creek, Istranca Stream, Limonlu (Mersin) Stream, Yuvarlakçay (Köyceğiz), Eleşkirt, Uludal Village (Ağrı), Değirmendere (Ağrı), Sarısu (Ağrı), Doğubeyazıt Balık Stream (Ağrı), Saz Lake (Ağrı), Karaca Village (Ağrı), Hamur Suyu (Ağrı), Poyrazlar Lake, Taşkısığı Lake, Abant Lake, Yeniçağa Lake, Işıklı Lake (Denizli), Ceyhan River Basin (Gürlek et al., 2019).

***Valvata piscinalis* (Müller, 1774)**

Habitat preferences in this study: Stony and vegetation was found in areas with higher altitude. Pictures of the species are given in the Figure 2.

Distribution in Turkey: İzmir, Aliğa, Kuzgun Lake (Çoraklar Spring), Efes Lake (Selçuk), Narlıkuyu (Bornova), Mandacıyı (Bornova), Kocasu (Bornova), Lake Gölbaşı (Hatay), Göksu Spring, Kanı Fountain, Üçpınar Village, Oğlananası Pond, Akhisar Reservoir, Akçapınar Stream, Akyaka Kadın River Branch, Poyrazlar Lake, Taşkısığı Lake, Büyük Akgöl, Acarlar Lake, Abant Lake, Yeniçağa Lake, Azaplı Lake, İnekli Lake, Ceyhan River Basin (Gürlek et al., 2019).

DISCUSSION

As a result, there are almost no studies on Gastropoda and Bivalvia species in Çoruh River and its tributaries. This study will guide the work to be done in the basin.

According to Glöer and Pesic 2010, *Planorbis intermixtus* show the distribution island of Greece, the Caspian Sea basin, and from Turkey's mountain to Kyrgyzstan. *Planorbis intermixtus* detected in the Çoruh Basin conforms to these data. *Dreissena polymorpha*, which is thought to be able to live in very different habitats according to proper water quality and nutritional conditions, was encountered in the Çoruh Basin at the station showing the pond character with the facilities establish around it for commercial purposes. Gyraulus species are distinguished shell structure, dimensions, and prostate diverticles. In the

Çoruh Basin 1 species belonging to the Gyraulus genus were determined.

In this study, *Galba truncatula* was detected in stagnant waters such as pond and fountain and slow running streams. *Radix labiata* was detected in permanent and slow-running freshwater by Schniebs et al., 2013. The findings in the Çoruh Basin are similar to these data. *Ancylus fluviatilis* was identified from the source and its tributaries and habitat features were generally shown as stony, sandy soils by Yıldırım et al., 1999. The stations where *Ancylus fluviatilis* is detected in the closest to the source (İremköy Stream) and have stony, vegetated, and sandy habitats in the Çoruh Basin.

In this region, the shells of *Belgrandiella nemethi* were found by Shütt and Şeşen in 1993. This species, which has been identified within the borders of Borçka district (Artvin) where the Çoruh River abandons the borders of Turkey. Species identified as a result of sampling were recorded for the first time in the Çoruh Basin.

Table 1. Information of sampling stations

Station No	Station Name	District/Province	Coordinate	Sampling Tool
1	Çatıksu Stream	Aydıntepe/Bayburt	40. 41 N, 40.064 E	D-Frame Net
2	Saruhan Stream	Aydıntepe/Bayburt	40,042 N, 40,191 E	D-Frame Net
3	Güder Stream	Aydıntepe/Bayburt	40,1180 N, 40,1425 E	D-Frame Net
4	Otlukbeli Stream	Aydıntepe/Bayburt	40,0060 N, 38,8925 E	D-Frame Net
5	Kırkpınar Stream	Aydıntepe/Bayburt	40, 2972 N, 39,9704 E	D-Frame Net
6	Nişantaşı Pond	Aydıntepe/Bayburt	40,3475 N, 40,040 E	D-Frame Net
7	Değirmencik Fountain	Aydıntepe/Bayburt	40,3681 N, 40,2449 E	D-Frame Net
8	Güvercindere Irrigation Channel	Demirözü/Bayburt	40,13 N, 38,89 E	D-Frame Net
9	Aydıncık Stream	Merkez/Bayburt	40,356 N, 40,32 E	D-Frame Net
10	Tortum Waterfall (Lower)	Tortum/Erzurum	40,660 N, 41,66 E	D-Frame Net
11	Anur Stream	İspir/Erzurum	40,53 N, 40,74 E	D-Frame Net
12	Yağcılar Stream	Tortum/Erzurum	40,27 N, 41,36 E	D-Frame Net
13	Tortum Waterfall (Upper)	Tortum/Erzurum	40,66 N, 41,66 E	D-Frame Net
14	Doruklu Stream	Tortum/Erzurum	40,35 N, 41,31 E	D-Frame Net
15	Yedigöze Stream (Çoruh River Anakol)	İspir/ Erzurum	40,54 N, 41,05 E	D-Frame Net
16	Mansuret Stream ,	Şavşat/Artvin	41,45 N, 42,19 E	D-Frame Net
17	Narlık Stream	Yusufeli/Artvin	41,00 N, 41,70 E	D-Frame Net
18	Şavşat Stream (Veliköy)	Şavşat/Artvin	41,31 N, 42,43 E	D-Frame Net
19	İremköy Stream	Borçka/Artvin	41,4856, 41,922	D-Frame Net
20	Kirazalan Stream	Yusufeli/Artvin	40,99 N, 41,76 E	D-Frame Net
21	Ballı Stream	Şavşat/Artvin	41,23 N, 42,45 E	D-Frame Net

Table 2. Species observed in the stations.

	<i>Dreissena polymorpha</i>	<i>Gyraulus piscinarum</i>	<i>Valvata macrostoma</i>	<i>Euglesa casertana</i>	<i>Planorbis intermixtus</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Valvata piscinalis</i>	<i>Radix labiata</i>	<i>Ancylus fluviatilis</i>
Çatıksu Stream								*	
Saruhan Stream		*		*					
Güder Stream				*					
Otlukbeli Stream				*	*			*	
Kırkpınar Stream				*	*	*	*	*	
Nişantaşı Pond		*		*	*	*			
Değirmencik Fountain		*		*		*			
Güvercindere I.C				*		*			
Aydıncık Stream				*		*			
Tortum Waterfall 2	*		*	*					
Anur Stream		*							
Yağcılar Stream				*					
Tortum Waterfall 1	*								
Doruklu Stream				*	*	*			*
Yedigöze Stream				*					
Mansuret Stream		*		*					
Narlık Stream									*
Şavşat Stream				*				*	
İremköy Stream		*		*					*
Kirazalan Stream		*							
Ballı Stream				*		*			

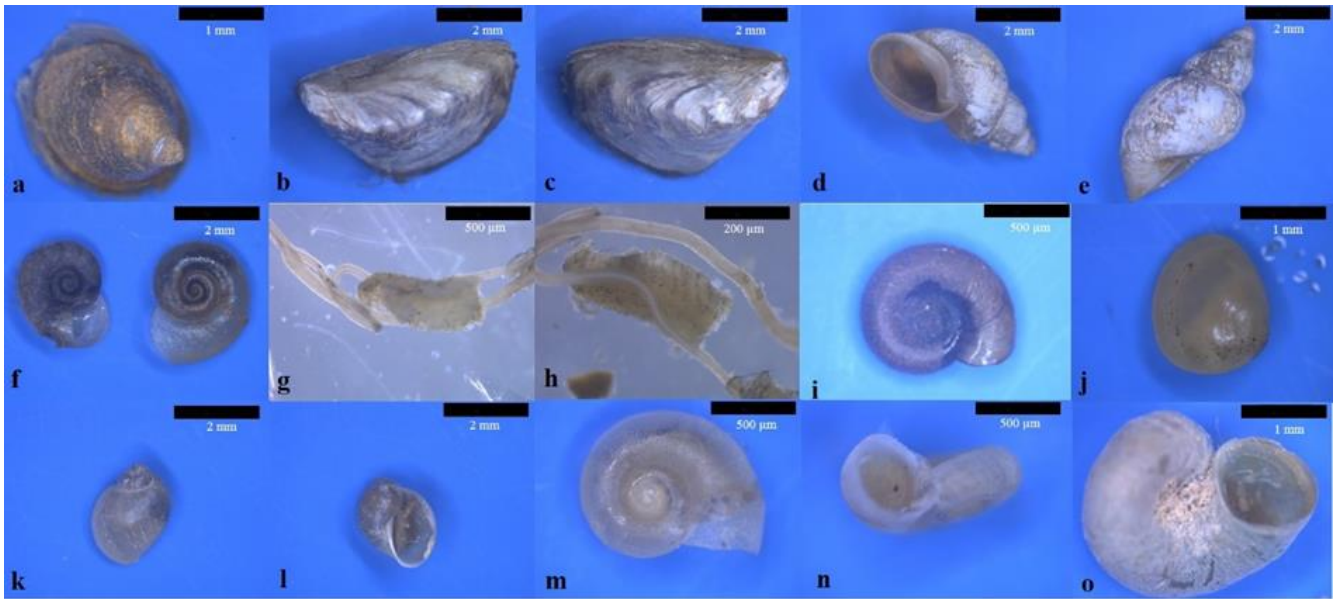


Figure 2. Pictures of diagnosed species (a: *Ancylus fluviatilis*; b, c: *Dreissena polymorpha*; d,e: *Galba truncatula*; f: *Gyraulus piscinarum*; g,h,i: *Planorbis intermixtus*; j: *Euglesa casertana*; k,l: *Radix labiata*; m,n; *Valvata macrostoma*; o: *Valvata piscinalis*)

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Doç.Dr. Deniz Anıl Odabaşı and Dr. Esra Bayçelebi for their suggestions and comments improving the article.

REFERENCES

- Akpınar, A., Kömürcü, M.İ., Kankal, M. & Filiz, M.H. (2009). Çoruh Havzası'ndaki küçük hidroelektrik santrallerin durumu. *V. Yenilenebilir Enerji Kaynakları Sempozyumu*. Diyarbakır, 9-21 Haziran, 249-254.
- Angelov, A.M. (2000). *Catalogus Faunae Bulgaricae 4 Mollusca: Gastropoda et Bivalvia Aquae Dulcis*. Pensoft Publishers and Backhuys Publishers Bv, 19pp.
- Arslan, N., Akkan Kökçü, C. & Mercan, D. (2017). The non-indigenous and Ponto-Caspian gastropoda fauna of Lake Sapanca (Turkey), with notes on the Pontocaspian Clitellata species in the Lake. *Acta Zoologica Bulgarica, Supplement 9*, 93-98.
- Bilgin, F.H. (1967). İzmir civarı tatlısularında yaşayan gastropodlar üzerinde sistematik ve ekolojik araştırmalar. *E.Ü. Fen Fakültesi İlmî Raporlar Serisi*, 36, 1-55.
- Bilgin, F.H. (1973). Yurdumuzda ilk defa tespit edilen ve tıbbi önemi olan bir tatlısu gastropodu *Melanoides tuberculatus* (Müller, 1774) Hakkında. *E.Ü. Fen Fakültesi İlmî Raporlar Serisi*, 167, 1-7.
- Bilgin, F.H. (1980). Batı Anadolu'nun bazı önemli tatlısularında toplanan mollusca türlerinin sistematigi ve dağılışı. *D.Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*, 8, 1-64.
- Bilgin, F. H. & Şeşen, R. (1991). The distribution of molluscs in some freshwaters of the Mersin, Adana and Antakya regions of Turkey, with morphometric notes. *Proceeding Tenth International Malacology Congress T.bingen, Germany*. (1989). 593- 597.
- Glöer, P. & Meier-Brook, C. (1998). Süßwassermollusken, Ein Bestimmungsschlüssel für die Bundesrepublik Deutschland, DJN, 136pp.
- Glöer, P. & Pesic, V. (2010). The *Planorbis* species of the Balkans with the description of *Planorbis vitojensis* n.sp. (Gastropoda: Planorbidae). *Journal of Conchology*, 40(3), 249-257.
- Gürlek, M.E., Koşal Şahin, S., Dökümcü, N. & Yıldırım, M.Z. (2019). Checklist of The Freshwater Mollusca of Turkey (Mollusca: Gastropoda, Bivalvia). *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(4), 2992-3013.
- Gürlek, M.E. (2019). *Pseudamnicola sumbasensis* sp.nov., A New Species From Turkey (Gastropoda: Truncatelloidea: Hydrobiidae). *Turkish Journal of Zoology*, 43, 114-117.
- Kalyoncu, H., Barlas, M., Yıldırım, M.Z. & Yorulmaz, B. (2008). Gastropods of two Important Streams of Gökova Bay (Muğla, Turkey) and Their Relationships With Water Quality. *International Journal Of Sciences And Technology*, 3(1), 27-36.

- Kılıçaslan, I. & Özbek, M. (2010).** Contributions to the Knowledge on the Distribution of Freshwater Mollusca Species of Turkey. *Review of Hydrobiology*, **3**(2), 127-144.
- Koşal Şahin, S. & Zeybek, M. (2016).** Distribution of Mollusca Fauna in the Streams of Tunceli Province (East Anatolia, Turkey) and its Relationship with Some Physicochemical Parameters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **16**(1), 187-195. DOI: [10.4194/1303-2712-V16_1_19](https://doi.org/10.4194/1303-2712-V16_1_19)
- Koşal Şahin S. (2013).** Aşağı Sakarya Nehri (Karasu) Mollusca Türleri ve Onları Etkileyen Bazı Fizikokimyasallar. *Yunus Araştırma Bülteni*, **2**, 11-19.
- Odabaşı, D.A., Glöer, P. & Yıldırım, M.Z. (2015).** The Valvata Species of Turkey with a Description of *Valvata Kebapcii* n.sp. (Mollusca: Valvatidae). *Ecologica Montenegrina*, **2**(2), 135-142.
- Öktener, A. (2004).** A Preliminary Research on Mollusca Species of Some Freshwaters of Sinop and Bafra. *G.U. Journal of Science*, **17**(2), 21-30.
- Recluz, CA. (1841)** Description o Some Species of Living Nerites. 2nd Part, Continuation and End. In: *Revue Zoologique, Par La Societe Cuvierienne, Association Universelle, Pour L'avancement De La Zoologie, De l'Anatomie Comparee Et De La Paleontologie; Journal Mensuel; I. Travaux Inedits. Paris*, 337-343.
- Salman, S. (2006).** *Omurgasız Hayvanlar Biyolojisi: 4. Baskı*, Palme Yayıncılık, Ankara, Türkiye, 500s.
- Schütt, H. (1964).** Die Molluskenfauna eines relikttären Quellsees der südlichen Türkei. *Arc. Moll.* **93**(5/6), 173-180.
- Schütt, H. (1965).** Zur Systematik und Ökologie Türkischer Süßwasserprosobrancher, *Zool. Mededelingen*, **41**(3), 1-72.
- Schütt, H. (1982).** Die molluskenfauna der süßwässer im einzugsgebiet des Orontes unter berücksichtigung benachbarter Flußsysteme. *Archiv für Molluskenkunde* Band. 113
- Schütt, H. & Şeşen, R. (1993).** Pseudamnicola Species and Other Freshwater Gastropods (Mollusca, Gastropoda) from East Anatolia (Turkey), The Ukraine And The Lebanon. *Basteria*, **57**, 161-171.
- Schniebs, K., Glöer, P., Vinarski, M.V & Hundsdoerfer, A.K. (2013).** Intraspecific morphological and genetic variability in the European freshwater snail *Radix labiata* (Rossmesler, 1835) (Gastropoda: Basommatophora: Lymnaeidae). *Contributions to Zoology*, **82**(1), 55-68.
- Şereflişan, H., Yıldırım, M.Z. & Şereflişan, M. (2009).** The Gastropod Fauna and Their Abundance and Some Physicochemical Parameters of Lake Gölbaşı (Hatay, Turkey). *Turkish Journal of Zoology*, **33**, 287-296.
- Yılmaz, H. (2010).** Artvin Kenti ve Çevresinin Ekoturizm Açısından Değerlendirilmesi. *III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi*, 20-22 Mayıs 2010, Artvin, Türkiye, 1595-1605.
- Yıldırım, M.Z., Ertan, Ö.O. & Morkoyunlu, A. (1999).** *Ancylus fluviatilis* Müller, 1774 (Gastropoda: Pulmonata)'in lokal popülasyonlarında (Eğirdir-Türkiye) biyolojik ve ekolojik araştırmalar. *Turkish Journal of zoology*, **2**, 625-634.
- Yıldırım, M.Z., Bahadır Koca, S. & Kebapçı, Ü. (2006).** Isparta İli Tatlı Sularında Yayılış Gösteren Hydrobioidea (Gastropoda: Prosobranchia) Süperfamilyası Türlerinin Bazı Taksonomik Karakterleri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **23**(1/1), 173-177.
- Zeybek, M., Kalyoncu, H. & Ertan, Ö.O. (2012).** Species Composition and Distribution of Mollusca in Relation to Water Quality. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **12**, 721-729. DOI: [10.4194/1303-2712-V12_3_21](https://doi.org/10.4194/1303-2712-V12_3_21)



Possible Efficacy of Some Plant Crude Extracts Against *Orosanga japonica* (Hemiptera: Ricaniidae) Nymphs

İbrahim GUNAY¹ Murat OZTURK¹ Asu USTA^{*2} M. Mustafa AKINER¹

¹Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, 53100 Rize, Turkey

²Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, 53100 Rize, Turkey.

Geliş/Received: 09.03.2020

Kabul/Accepted: 17.05.2020

How to cite: **How to cite: Guney, İ., Ozturk, M., Usta, A. & Akiner, M.M. (2020).** Possible Efficacy of Some Plant Crude Extracts Against *Orosanga japonica* (Hemiptera: Ricaniidae) Nymphs. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 191-198.

Atıf yapmak için: **Guney, İ., Ozturk, M., Usta, A. & Akiner, M.M. (2020).** Bazı Bitki Ham Özütlerinin *Orosanga japonica* (Hemiptera: Ricanidae) Nimflerine Karşı Olası Etkinlikleri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 191-198.

<https://orcid.org/0000-0002-6008-4686>
 <https://orcid.org/0000-0001-7022-5158>
 <https://orcid.org/0000-0002-1826-9599>
 <https://orcid.org/0000-0002-7658-3236>

***Corresponding author's:**

Asu USTA
Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Chemistry, 53100 Rize, Turkey.
✉: asu.usta@erdogan.edu.tr
Mobile telephone : +90 (532) 540 95 53
Telephone : +90 (464) 223 61 26
Fax : +90 (464) 223 40 19

Abstract: In this study, twenty species from twelve plant families were tested for potential effectiveness against *Orosanga japonica* control on nymph. Methanol extracts mortality rates were generally found to be higher than ethyl acetate extracts. Most effective plant crude extracts were *Salvia verticillate* (Lamiaceae) and *Daucus carota* (Apiaceae) respectively. Consequently, we reported the high or moderate potential insecticidal activity against *Orosanga* nymphs from eleven different plant families extract. That is why, we recommend extensive and more detailed study for the establish biological based control methods against invasive *Orosanga japonica* in Black Sea countries.

Keywords: Biological control, insecticidal activity, mortality, *Orosanga japonica*, plant extract, Ricaniidae, Turkey.

Bazı Bitki Ham Özütlerinin *Orosanga japonica* (Hemiptera: Ricanidae) Nimflerine Karşı Olası Etkinlikleri

***Sorumlu yazar:**

Sorumlu yazar:
Asu USTA
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 53100 Rize, Turkey.
✉: asu.usta@erdogan.edu.tr
Mobile telephone : +90 (532) 540 95 53
Telephone : +90 (464) 223 61 26
Fax : +90 (464) 223 40 19

Öz: Bu çalışmada, on iki bitki familyasından yirmi türün *Orosanga japonica* nimf kontrolüne karşı potansiyel etkinlikleri edilmiştir. Metanol ekstraktları ölüm oranlarının genellikle etil asetat ekstraktlarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. En etkili bitki ham özütleri sırasıyla *Salvia verticillate* (Lamiaceae) ve *Daucus carota* (Apiaceae) olarak görülmüştür. Sonuç olarak, on bir farklı bitki familyası türlerinden alınan özütlerin *Orosanga* nimflerine karşı yüksek veya orta derecede potansiyel insektisidal aktivite rapor edilmiştir. Bu nedenle Karadeniz ülkelerinde istilacı *Orosanga japonica*'ya karşı biyolojik bazı kontrol yöntemlerinin oluşturulması için kapsamlı ve daha ayrıntılı bir çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar kelimeler: Biyolojik kontrol, insektisidal aktivite, ölüm oranı, *Orosanga japonica*, bitki özütü, Ricaniidae, Türkiye.

INTRODUCTION

Ricaniidae species have an important group in the Hemipteran pests that include invasive species. This family is represented in the world with 46 genera and 450 species. (Chou et al., 1985; Shcherbakov, 2006; Gnezdilov, 2009; Bu et al. 2010). Only species belonging to the *Ricania* genus of this family are distributed in Palaearctic Region (Demir, 2009). However, some Ricaniidae species have spread to beyond to the original habitats. *Orosanga japonica* was firstly detected in Russia (Krasnodar), Ukraine (Crimea) in West Palearctic. It was transported from native habitats to Russia in the 1900s via seedling or plants transportation for the Botanical garden. In 1950s, the species was recorded in Georgia (Nast, 1987; Gnezdilov & Sugonyaev, 2009; EPPO, 2016; Bourgoïn, 2017). For the last two decades, it has been reported in the Eastern Black Sea area and began to spread rapidly to the west (Demir, 2009; Cebir, 2016; Demir, 2018; Akıner et al., 2019). It was also recorded in the Western Black Sea region by Öztemiz, (2018) and İstanbul by Arslangüdoğdu & Hizal, (2019). Adult and nymph stages of this species are fed with plant sap like beans, corn, cabbage, pepper and eggplant, especially in all agricultural plants, shrubs and shoots (Gokturk & Aksu, 2014). Furthermore, they caused indirect by damage on weaken the plant. This situation makes the plant vulnerable to attack by some important plant pathogenic fungi (*Cylindrocarpon sp.*, *Fusarium sp.* and *Pestalotiopsis quepinii*) (Eken et al., 2013). *O. japonica* is an important plant pest, generally in tropical regions but recently some authors reported the different degree of damage situation about chestnut in Abhazia (related to vector situation of the fungus pathogen), orchards in around Caspian Sea in Iran, tea and kiwifruit in Turkey (Lukmazova & Selikhovkin, 2013; Ak et al., 2015; Mozaffarian, 2018). In recent years, the population of *O. japonica* has increased step by step in the Eastern Black Sea region (Akıner et al., 2019).

Eastern Black Sea is a region characterized by its topographic characteristics and precipitation regime, and it differs from other regions of Turkey. Agricultural production is limited due to the limited cultivable areas and the sloping structure of the land. The most important agricultural products of the region are tea (*Camelia sinensis*), hazelnut (*Corylus avellana*) and kiwi (*Actinidia deliciosa*), respectively. The increase in *O. japonica* population level and its rapid spread are arised problems in the agriculture of these commercial products and cause production losses. Pest has an important detrimental effect on different plants grown such as *Vitis vinifera*, *Ficus carica*, *Phaseolus vulgaris* and *Cucumis sativus*. According to the decision of Turkey's General Directorate of Tea Enterprises, step by step, also including fertilizers are applied zero synthetic chemicals in the region. Therefore, chemical control agent (insecticides) usage is very limited in the Eastern Black Sea area though.

In this mean, the area is the only region in the world where tea plant grows in naturally without any input except limited amount of chemical fertilizer.

The long term control of Ricanidae species with insecticides has yet been developed in any country (Jeon et al., 2017). Synthetic insecticide based control methods are most influential method for pest control in many areas (human, animal and plant health). But, the use of synthetic chemicals is known to bring serious problems such as environmental contamination and insecticide resistance (Nicoletti e al., 2010; Liu et al., 2012). Additionally, toxic and detrimental effects on non target organisms are very big problem in many areas (Dinesh et al., 2015). There is a need to develop selective and naturally-based control methods in the control of the Ricaniidae species due to the harmful effects of chemical based insecticides and above mentioned reasons. Botanical based materials are safer for non target organisms and environmentally friendly agents for pest control operations (Lee & Lee, 2016; Lee et al., 2016). Although different kinds of biological based control agents and mechanical control option studies were conducted against adult stage of *O. japonica* (Güçlü et al., 2010; Ak et al., 2013; Eken et al., 2013; Gokturk & Mihli, 2015; Gokturk et al., 2017), there is a need more study of subject.

All of the selected plants are belonging to some plant families identified as to have a significant insecticidal and larvicidal activity against different kind of insects. Around 110 plant families with these properties have been identified worldwide and Lamiaceae, Fabaceae, Asteraceae, Apiaceae and, Solanaceae are the most important families in this group (Boulogne et al., 2012). Similar studies for different insect are usually about obtaining essential oils by hydrodistillation method and investigating their insecticidal properties. In this study, examined the possible efficacy of different plant crude extracts against nymph stage of *O. japonica*. Therefore, firstly, our aim in this study is to investigate the contact toxicity of crude extracts derived from a plant twenty naturally grown in Turkey.

MATERIAL AND METHOD

Plant material: Selected twenty plant species were collected from different localities in Turkey. The specimen identification was performed by Prof. Vagif Atamov from the Faculty of Science and Arts, Recep Tayyip Erdogan University in Rize, Turkey. A sample of each plant was deposited in the Herbarium of Biology Department. Information about these plants are given in Table 1.

Preparation of plant extracts: During the extraction of plants, it is important to avoid contamination of the extract as a result of extraction conditions or solvent impurities. The aerial parts of fresh plants were cleaned and

washed with distilled water and ethyl alcohol mixture against fungus like contaminations (1:1, v/v). Cleaned plant materials were dried for one week at room temperature with reduced humidity (25%). Subsequently, all materials were powdered using an electric blender and made as in the literature by ethyl acetate and methanol (Dmitrienko et al., 2012; Mokrani & Madani, 2016). The crude extracts were

filtered, evaporated to dryness and lyophilized under pressure to completely remove the solvent used in the extraction. A stock solution of each crude extract was prepared in DMSO and stored below 4 °C until testing for bioassay. Crude oil yields obtained from extractions with a solvent of studied plant materials are given in Table 1.

Table 1. Crude oil yields obtained from extractions with a solvent of studied plant materials

Family	Plant species	Date	Origin	Used part	Yield (%)	
					MeOH	EtOAc
Lamiaceae	<i>Salvia verticillate</i>	May 2018	Antalya	Aerial part	7.80	2.93
	<i>Phlomis lychitis</i>	May 2018	Konya	Aerial part	9.71	2.46
	<i>Salvia tomentosa</i>	May 2018	Antalya	Aerial part	8.07	6.43
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i>	July 2018	Denizli	Aerial part	5.30	1.62
	<i>Daucus carota</i>	Aug. 2018	Rize	Aerial part	5.98	3.12
Asteraceae	<i>Matricaria chamomilla</i>	May 2018	Denizli	Aerial part	2.34	6.71
	<i>Laucantheum vulgare</i>	April 2018	Rize	Aerial part	3.67	3.68
	<i>Tripleurospermum vulgare</i>	May 2018	Rize	Aerial part	6.97	4.03
	<i>Erigeron annuus</i>	June 2018	Rize	Aerial part	4.55	2.23
	<i>Inula vulgaris</i>	Sept. 2018	Artvin	Aerial part	2.78	3.33
Primulaceae	<i>Primula vulgaris</i>	April 2019	Artvin	Flower	10.99	3.53
	<i>Primula vulgaris</i>	April 2019	Artvin	Leaf	12.69	2.64
Ericaceae	<i>Rhododendron luteum</i>	Aug. 2018	Rize	Flower	2.27	0.86
	<i>Rhododendron ponticum</i>	June 2018	Rize	Leaf	1.16	1.26
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>	Febr. 2018	Rize	Fruit peel	1.36	1.16
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i>	April 2018	Denizli	Leaf	5.59	3.66
Solonaceae	<i>Nicotiana tabacum</i>	Aug. 2018	Denizli	Leaf	5.23	5.73
Polygonaceae	<i>Polygonum persicaria</i>	Sept.2018	Rize	Aerial part	2.91	1.03
Papaveraceae	<i>Papaver somniferum</i>	May 2018	Konya	Seed	6.68	12.57
Lythraceae	<i>Lythrum salicaria</i>	Sept. 2018	Rize	Aerial part	7.05	3.71
Boraginaceae	<i>Heliotropium europaeum</i>	July 2018	Antalya	Aerial part	5.84	3.82

MeOH: Methyl alcohol; EtOAc: Ethyl acetate

Herbarium numbers: *S. verticillate* (RTEUB:4305); *P. lychitis* (RTEUB:4307); *S. tomentosa* (RTEUB:4406); *F. vulgare* (RTEUB:4435); *D. carota* (RTEUB:4408); *M. chamomilla* (RTEUB:4436); *L. vulgare* (RTEUB:4503); *T. vulgare* (RTEUB:4503); *E. annuus* (RTEUB:4505); *I. vulgaris* (RTEUB:4509); *P. vulgaris* (RTEUB:4511); *R. luteum* (RTEUB:4506); *R. ponticum* (RTEUB:4507); *C. sinensis* (RTEUB:4513); *L. nobilis* (RTEUB:4537); *N. tabacum* (RTEUB:4538); *P. persicaria* (RTEUB:4508); *P. somniferum* (RTEUB:4514); *L. salicaria* (RTEUB:4515); *H. europaeum* (RTEUB:4509).

Test organisms

The nymphs of *O. japonica* were collected with electric aspirator in and around Rize city (41.025461 Lat 40.482803 Lon Alipasa, 41.036468 Lat 40.493461 Lon Campus). About 1000 *Orosanga* nymphs collected from region were placed into the cages (20 x 20 x 20 cm, maximum of 50 nymphs) and transferred to the laboratory. The samples brought to the insectarium were taken into cages of 50 x 50 x 50 cm for easy to feed (maximum of 100 nymphs in each cage) during acclimatisation period. The cages to be used were previously sterilised in order to avoid any contamination. Samples were held at 26 ± 2 °C, 65 ± 10 % relative humidity and a photoperiod regime of 12:12 h (L:D) in the insectarium. Fresh blackberry branches were put into the cages for feeding. Samples were kept for 24 hours in the insectarium for to acclimate to the environment before the tests.

Insecticidal Activity

250 mL glass jars and filter paper were used for evaluating the contact toxicity of crude extracts. The each of stock solutions (500 ppm) prepared by using DMSO was impregnated to filter papers (10x20 cm) prepared separately. DMSO impregnated paper was used as a

control. Filter papers were placed in the jars after impregnation. Glass jar was cleaned and autoclaved before experiment. Collected and acclimatised *O. japonica* nymphs for 24 hours were distributed to 250 mL glass jars. 20 individuals were used for every test chamber for avoiding uncontrolled death rate related to the density effect. Fresh blackberry branch was put into every jar for feeding.

24 hours and 48 hours death rate were counted. The per cent mortality was calculated according to the death rate and corrected *Abbott formula* (Abbott, 1925). All tests were done in two replications.

RESULTS AND DISCUSSION

In this study, 20 species from eleven plant families were tested for potential efficacy against nymph stage of *O. japonica* was evaluated by contact toxicity assay by using impregnated paper (Table 2). The effect rate (death rate) of two kinds of crude extracts obtained by using different polarity solvents such as ethyl acetate and methyl alcohol varies between 2.5 and 100 per cent.

Table 2. The effectiveness of different plants crude extracts against nymph stage of *O. japonica*

Family	Plant species	% mortality			
		EtOAc		MeOH	
		24 h	48 h	24 h	48 h
Lamiaceae	<i>Salvia verticillate</i>	80	100	87.50	100
	<i>Phlomis lychitis</i>	17.50	56.25	16.25	71.25
	<i>Salvia tomentosa</i>	33.75	55	35	81.25
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i>	33.75	52.5	27.50	53.75
	<i>Daucus carota</i>	87.75	100	78.75	100
Asteraceae	<i>Matricaria chamomilla</i>	8.75	87.5	2.50	2.50
	<i>Leucanthemum vulgare</i>	18.75	47.5	25	75
	<i>Tripleurospermum caucasicum</i>	20	43.75	71.25	98.75
	<i>Erigeron annuus</i>	65	82.5	73.75	100
	<i>Inula vulgaris</i>	22.50	48.75	18.75	66.25
Primulaceae	<i>Primula vulgaris</i> (flower)	52.5	90.25	56.25	96.25
	<i>Primula vulgaris</i> (leaf)	32.5	86.25	61.25	98.75
Ericaceae	<i>Rhododendron luteum</i>	31.25	76.25	30	76.25
	<i>Rhododendron ponticum</i>	51.25	82.5	52.5	80
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i>	61.25	90	72.5	98.75
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i>	70	95	53.75	91.25
Solanaceae	<i>Nicotiana tabacum</i>	22.50	61.25	27.50	72.5
Polygonaceae	<i>Polygonum persicaria</i>	23.75	60	36.25	77.5
Papaveraceae	<i>Papaver somniferum</i>	47.75	80	30	60
Lythraceae	<i>Lythrum salicaria</i>	57.5	96.25	67.5	93.75
Boraginaceae	<i>Heliotropium europaeum</i>	38.75	93.75	66.25	98.75

h: hour; MeOH: Methyl alcohol; EtOAc: Ethyl acetate

Among the tested species in the Lamiaceae family, *Salvia verticillate* caused the highest mortality rates after 24 and 48 h periods for two tested extract types. *Salvia tomentosa* and *Phlomis lychitis* caused high mortality rates after 48 h test period for two tested extract types. EtOAc extract gave 52.5-55% mortality values for this two plant species after 48 h. For Apiaceae family, *Daucus carota* caused high mortality for two extract types after 24 and 48 h and mortality values ranged between 78.75% (MeOH 24 h) and 100% (EtOAc and MeOH 48 h). In contrast this result *Foeniculum vulgare* caused low mortality for all tested periods and extract types. Asteraceae family plant species test results ranged between 2.5% (*Matricaria chamomilla* MeOH extract 24 h) and 100% (*Erigeron annuus* MeOH extract 48 h). *E. annuus* caused highest mortality after two tested periods and extract types among the tested Asteraceae family species. Only one species tested from the Primulaceae family member, but two different plant parts tested (flower and leaf). Whole tested design caused moderate and high mortality after 24 and 48 h except EtOAc leaf extract 24 h tested period (32.5%) for *Primula vulgaris*. *Rhododendron ponticum* caused moderate and high mortality rates for two tested periods and extracts. *Rhododendron luteum* caused high mortality for two tested extracts 48 h after the test. Although two Ericaceae species gave moderate and high mortality, it did not exceed 82.5% (EtOAc extract 48 h). *Citrus sinensis* (Rutaceae), *Laurus nobilis* (Lauraceae), *Lythrum salicaria* (Lythraceae) and *Heliotropium europaeum* (Boraginaceae) species extracts caused moderate and high mortality rates after both extract types and tested periods among the other tested plant family members.

In general, methyl alcohol extracts mortality rates were generally found higher than ethyl acetate extracts. It was determined that the most effective plant extracts against *O. japonica* nymphs were *S. verticillate* (Lamiaceae) and *D. carota* (Apiaceae) for two extracts and two intervals after experiment (24-48 h). Duration times increased the mortality rates except *M. chamomilla* (Asteraceae) methanol extract. Although *M. chamomilla* methyl alcohol extract mortality rates were the same, the highest increase of mortality rates was found in ethyl acetate extract for this plant.

Some authors reported the effective activity range for *Salvia* species against vector mosquito species larvae, biting deterrent activity (Ali et al., 2014; Gün et al., 2011) and plant pest species (Kara et al., 2014; Kostic et al., 2007). Our results showed moderate or high mortality rates for two different *Salvia* species, but *S. tomentosa* activity was lower than the *S. verticillate*. *Salvia* species include high rate of different terpenoid and sesquiterpenoid components according to the some studies about the chemical composition (Sefidkon & Khajavi, 1999; Tabanca et al., 2017). Chemical composition of the plant species related to the insecticidal activity refers to terpenoids, alkaloids and phenolic compounds (Boulogne & Petit, 2012). Furthermore, methyl alcohol and ethyl acetate are the best solvents for the phenolic, terpenoid and flavonoid constituents respectively (Dimitrienko et al., 2012; Mokrani & Madani, 2016). The last Lamiaceae member of this study (*P. lychitis*) caused low and moderate mortality during 24 h and 48 h. Although chemical composition of the *Phlomis* species include different degree of sesquiterpene and terpenoid, this result may be explained by lower ratio of terpenoid than *Salvia* species

(Lopez et al., 2010; Sarıkaya & Fakir, 2017). Some studies refer to *D. carota* extracts for effectiveness against different plant pest species and mosquito groups (El Idrisii, 2016; Hrudova et al., 2006; Muturi et al., 2019). Muturi et al., (2019) indicated that three chemical constituents (terpinolene, para cymene, and γ -terpinene) have more toxic than the other six tested chemical compositions. Our results gave high efficiency against nymphal stages of the *O. japonica*. Although *D. carota* extracts gave high mortality rates, other Apiaceae species (*F. vulgare*) caused low and moderate mortality after 24 h and 48 h duration. Some studies reported the high constituent of terpenoid compound and antifungal activity for *F. vulgare*, but our results did not indicate high insecticidal activity (Diao et al., 2014; Dukc et al., 2003). Five Asteraceae species caused moderate or high mortality rates during 48 h duration except *M. camomilla* methyl alcohol extract. Asteraceae family reported as the third family that showed insecticidal activity (Boulogne & Petit, 2012). Our results indicated that methyl alcohol extracts for Asteraceae species are more effective than ethyl acetate extracts. *P. vulgaris* leaf and flower extracts showed moderate and high activity against nymph. Death rate of 48 h gave up to 86% and high potential of the insecticidal activity. Methyl alcohol extract mortality rates were higher than the ethyl acetate extract. It was reported that the high phenolic, monoterpene and terpene like compounds *P. vulgaris* and other *Primula* species (Yaylı et al., 2016; Baczek et al., 2017). Therefore, high insecticidal activity may be related to this compounds in crude extracts. Two different Ericaceae species were tested in this study and results showed that the moderate or high mortality after 48 h. Chemical constituents of *R. luteum* and *R. ponticum* include different degree of terpenoid and phenolic compounds (Tasdemir et al., 2003; Usta et al., 2012). This constituent may be related to the higher toxicity of the nymphs, but does not completely explain these results. Giatropoulos et al., (2012) reported the larvicidal effects against the mosquito *Aedes albopictus* and relation to the limonene and pinene in the essential oils. Furthermore, essential oil of fruit peels and seeds of *C. sinensis* killed the larvae and adults of *Tribolium castaneum* by contact action (Salem et al., 2013). In our study, *C. sinensis* gave mortality up to 61% for 24 and 48 h duration. Our results revealed that *C. sinensis* was the high potential of the control. *L. nobilis* is one of the very well known plant for the tropical and subtropical region. It is known that the bioactive compounds are related to many usage areas such as antibacterial, antifungal, antioxidant and insecticidal (Charal et al., 2017). Our results indicated high insecticidal properties against nymphs. *Nicotiana tabacum* gave low (24 h) or moderate (48 h) toxicity against nymphs. This plant based biological activities against different kind of

plant pest caused high mortality *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae) (Sarker & Lim, 2018) and also other *Nicotiana* species extracts caused 100% mortality against key insect pests Brassicas (Amoebeng et al., 2018). But our results did not exceed 72.5% (methyl alcohol 48 h). *Polygonum persicaria* results showed a similar pattern with *N. tabacum* and gave moderate mortality after 48 h for two different extraction types. Although terpenoid components of *Polygonum* species were reported to be high (Saeidnia et al., 2014), insecticidal activities were not consistent with this situation in our result. *Papaver somniferum* seed extract caused low or moderate mortality after 48 h duration period. *Papaver* chemical component is generally related to the drug industry and pharmaceutical benzyloisoquinoline alkaloids and terpenoid constituent is not working well (Hao et al., 2015). Therefore constituent of alcohol based extraction may provide moderate toxicity after 48 h. *L. salicaria* results referred to the high insecticidal potential. Mortality results were found to be up to 57.5 % for 24 h and 48 h results were up to 93.75%. High phenolic compounds to this species (Rouha et al., 2001) were reported and it maybe related to the high potential of the insecticidal activity for this group. *H. europaeum* gave similar results like *L. salicaria*. It was reported the high alcoholic and different degree of flavonoid and triterpenoid constituent *Heliothropium* species. *H. europaeum* is also used for folk medicine as antipyretic, antihelmintic, cholagogue, emmenagogue, cardiogenic (Saeedi & Morteza-Semnani, 2009; Goyal & Sharma, 2014). Here we evaluated high potential of insecticidal activity.

CONCLUSION

Here, we reported that a total of 20 different plants distributed into 12 families have high or moderate potential insecticidal activities against *O. japonica* nymphs. Seven family groups are also well known insecticidal properties (Boulogne & Petit, 2012). Five other families such as Primulaceae, Ericaceae, Papaveraceae, Lythraceae and Boraginaceae were included in the study to see the comparison in terms of their insecticidal activity. It was determined that the plants in this family also show activity against *Orosanga* nymphs in varying proportions. There is a need for an extensive study about the insecticidal activity and detailed chemical composition related to the this data in near future to establish biological based control methods for this group. Nevertheless, it is thought that the observed activity values will contribute to the elimination of deficiencies in the literature and to create different thoughts on the subject.

REFERENCES

- Abbott, W.S.** (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, **18**, 265-267.
- Ak, K., Güçlü, S. & Sekban, R.** (2013). A new pest in East Black Sea Region, *Ricania simulans* (Walker, 1851) determining effectiveness of biopesticides with active substances of Azadirachtin and Spinosad against (Hemiptera: Ricaniidae). *Journal of Agricultural Sciences Research*, **6**, 10-14.
- Ak, K., Güçlü, S., Eken, C. & Sekban, R.** (2015). Türkiye için yeni bir zararlı *Ricania simulans* (walker, 1851) (Hemiptera: ricaniidae). *Türkiye Entomoloji Dergisi*. **39**, 179-186.
- Akner, M.M., Beriş, F.Ş., Seyis, F., Öztürk, M., Sevgili, H. & Demir, E.** (2019). Annual variation of the *Orosanga japonica* Melichar 1898 (Hemiptera: Ricaniidae) populations in the eastern Black Sea region of Turkey and possible molecular separation with based on 28S rDNA sequences from other Ricaniidae groups. *Plant Protection Bulletin*, **59**, 11-19.
- Amoebeng, B.W., Stevenson, P.C., Pandey, S., Mochiah, M.B. & Gurr, M.G.** (2018). Insecticidal activity of a native Australian tobacco, *Nicotiana megalosiphon* Van Heurck & Muell. Arg.(Solanales: Solanaceae) against key insect pests of brassicas. *Crop protection*, **106**, 6-12.
- Arslangündoğdu, Z. & Hizal, E.** (2019). New distribution area and host plants for invasive alien insect species, *Orosanga japonica* (melichar) in Turkey (Hemiptera: Ricaniidae). *Entomologica Americana*, **124**, 26-30.
- Baczek, K., Przybyl, J.L., Mirgos, M., Kosakowska, O., Szymborska-Sandhu, I. & Weglarz, Z.** (2017). Phenolics in *Primula veris* L. and *P. elatior* (L.) Hill Raw Materials. *International journal of analytical chemistry*, Article ID 2871579, 7 pages
- Boulogne, I. & Petit, P.** (2012). Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental chemistry letters*, **10**, 325-347.
- Bourgoin, T.** (2017). FLOW (Fulgoromorpha Lists on The web): a world knowledge base dedicated to Fulgoromorpha. Version 8, updated, last update: 06.02.2017. <http://hemiptera-databases.org/flow/>. (accessed on April 2019).
- Bu, C.P., Lariviere, M.C. & Liang, A.P.** (2010). *Parapiromis* nom. nov., a new name for *Piromis* Fennah (Hemiptera: Fulgoromorpha: Ricaniidae), with descriptions of three new species. *Zootaxa*, **2400**, 29-40.
- Cebir, Y.** (2016). *Determining of the Ricania japonica population structure that dispersed east Black Sea region and analysis of the systematic situation by molecular methods.* (MSc Thesis), Recep Tayyip Erdogan University Graduate School of Natural and Applied Sciences, 61 p., Rize.(Turkish).
- Chahal, K.K., Kaur, M., Bhardwaj, U., Singla, N. & Kaur, A.** (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **6**, 1153-1161.
- Chou, I.J., Huang, J. & Wang, S.** (1985). Economic Insects Fauna of China. Fasc. 36. Homoptera Fulgoroidea. Sciences Press Beijing, China, 1-152.
- Demir, E.** (2009). *Ricania* Germar, 1818 species of Western Palaearctic Region (Hemiptera: Fulgoromorpha: Ricaniidae). *Munis Entomology & Zoology*, **4**, 271-275.
- Demir, E.** (2018). The economically important alien invasive planthoppers in Turkey (Hemiptera: Fulgoromorpha). *Acta Entomologica Slovenica*, **26**, 231-240.
- Diao, W.R., Hu, Q.P., Zhang, H. & Xu, J.G.** (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*, **35**, 109-116.
- Dinesh, D.S., Kumari, S., Pandit, V., Kumar, J., Kumari, N., Kumar, P., Hassan, F., Kumar, V. & Das, P.** (2015). Insecticidal effect of plant extracts on *Phlebotomus argentipes* (Diptera: Psychodidae) in Bihar, India. *Indian Journal of Medicinal Research*, **142**, 95-100.
- Dimitrienko, S.G., Kudrinskaya, V.A. & Apyari, V.V.** (2012). Methods of extraction, preconcentration, and determination of quercetin. *Journal of Analytical Chemistry*, **67**, 299-311.
- Eken, C., Ak, K., Güçlü, S., Genç, T. & Sekban, R.** (2013) Fungal flora of *Ricania simulans* (Hemiptera: Ricaniidae). XI. *National Ecology and Environment Congress* (01-04 Sept. 2013, Samsun, Turkey), 208 pp.
- El Idrissi, M., Elhourri, M., Amecrough, A. & Lemrhari, A.** (2016). Insecticide activity study of essential oils of *Daucus carota* (L.) ssp. *carota* and *Chenopodium ambrosioides* (L.) on white larvae of *Melolontha melolontha*. *International Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology Research*, **1**, 12-21.
- EPPO.** (2016). *Ricania japonica*: a new polyphagous insect found in the EPPO region (2016/100). European and mediterranean Plant Protection Organization reporting Service no.5 Paris, 2016-05-Pests, 17-18.
- Giatropoulos, A., Papachristos, D.P., Kimbaris, A., Koliopoulos, G., Polissiou, M.G., Emmanouel, N. & Michaelakis, A.** (2012). Evaluation of bioefficacy of three *Citrus* essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. *Parasitology Research*, **111**, 2253-2263.
- Gnezdilov, V.M. & Sugonyaev, E.S.** (2009). First record of *Metcalfa pruinosa* Homoptera: Fulgoroidea: Flatidae) from Russia. *Zoosystematica Rossica*, **18**, 260-261.

- Gnezdilov, V.M. (2009).** A new subfamily of the planthopper family Ricaniidae Amyot et Serville (Homoptera, Fulgoroidea). *Entomological Review*, **89**, 1082-1086.
- Gokturk, T. & Aksu, Y. (2014).** Morphology, biology and damage of *Ricania simulans* (Walker, 1851) (Hemiptera: Ricaniidae), which harms agricultural and forest areas. Turkey II. Forest Entomology and Pathology Symposium (7-9 April 2014), Antalya 279-281.(Turkish).
- Gokturk, T. & Mihli, A. (2015).** Investigations on struggling with *Ricania simulans* (Walker) 1851 (Hemiptera: Ricaniidae) an important pest of the Eastern Black Sea Coastlines. *Artvin Coruh University Journal of Forestry Faculty*, **16**, 89-93.
- Gokturk, T., Kordali, S. & Bozhuyuk, A.U. (2017).** Insecticidal effects of essential oils against nymphal and adult stage of *Ricania simulans* (Hemiptera: Ricaniidae). *Natural Product Communications*, **12**, 973-976.
- Goyal, N. & Sharma, S.K. (2014).** Bioactive phytoconstituents and plant extracts from genus *Heliotropium*. *International Journal of Green Pharmacy*, **8**, 217-225.
- Güçlü, S., Ak, K., Eken, C., Akyol, H., Sekban, R., Beytut, B. & Yıldırım, R. (2010).** Pathogenicity of *Lecanicillium muscarium* against *Ricania simulans*. *Bulletin of Insectology*, **63**, 243-246.
- Gün, S.Ş., Çımbılgel, I., Öz, E. & Çetin, H. (2011).** Larvicidal activity of some *Salvia* L. (Labiatae) plant extract against the mosquito *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **17**, 61-65.
- Hao, D.C., Hu, X.L. & Xiao, P.G. (2015).** Phytochemical and biological research of *Papaver* pharmaceutical resources. *Medicinal Plants*, 217-251. Elsevier Publishing 2015.
- Hrudova, E., Kocourková, B. & Zelená, V. (2006).** Insecticidal effect of carrot (*Daucus carota*) and lovage (*Levisticum officinale*) (Apiaceae) extracts against *Tribolium confusum* Jacquelin du Duval, 1868 (Coleoptera, Tenebrionidae). *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, **54**, 165-168.
- Jeon, Y.J., Lee, S.G., Yang, Y.C. & Lee, H.S. (2017).** Insecticidal activities of their components derived from the essential oils of *Cinnamomum* sp. barks and against *Ricania* sp. (Homoptera: Ricaniidae), a newly recorded pest. *Pest Management Science*, **73**, 2000-2004.
- Kara, N., Yorulmaz, S.S. & Baydar, H. (2014).** The Usage of Sage (*Salvia officinalis* L.) and Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Extracts in the Management of Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say.). *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences*, **1**, 248-254.
- Kostic, M., Drazic, S., Popovic, Z., Stankovic, S., Sivcev, I. & Zivanovic, T. (2007).** Developmental and feeding alternations in *Leptinotarsa decemlineata* Say. (Coleoptera: Chrysomelidae) caused by *Salvia officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, **21**, 426-430.
- Lee, H.K. & Lee, H.S. (2016).** Toxicities of active constituent isolated from *Thymus vulgaris* flowers and its structural derivatives against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Applied Biological Chemistry*, **59**, 821-826.
- Lee, H.W., Lee, S.G. & Lee, H.S. (2016).** Active component isolated from *Eugenia caryophyllata*. *Applied Biological Chemistry*, **59**, 609-614.
- Liu, Z.L., Liu, Q.Z., Du, S.S. & Deng, Z.W. (2012).** Mosquito larvicidal activity of alkaloids and limonoids derived from *Evodia rutaecarpa* unripe fruits against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, **111**, 991-996.
- Lopez, V., Jager, A.K., Akerrata, S., Caverro, R.Y. & Calvo, M.I. (2010).** Antioxidant activity and phenylpropanoids of *Phlomis lychnitis* L.: A traditional herbal tea. *Plant Foods for Human Nutrition*, **65**, 179-185.
- Lukmazova, E.A. & Selikhovkin, A.V. (2013).** Forest Pest Status of Chestnut Forests of the Abkhazia republic. *International Caucasian Forestry Symposium, 24-26 October 2013*, Artvin, Turkey.
- Mımcıca-Dukiç, N., Kujundjic, S., Soković, M. & Couladis, M. (2003).** Essential oil composition and antifungal activity of *Foeniculum vulgare* Mill. obtained by different distillation conditions. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, **17**, 368-371.
- Mokrani, A. & Madani, K. (2016).** Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, **162**, 68-76.
- Mozaffarian, F. (2018).** An identification key to the species of Auchenorrhyncha of Iranian fauna recorded as pests in orchards and a review on the pest status of the species. *Zootaxa*, **4420**, 475-501.
- Muturi, J.E., Doll, K., Ramires, J.L. & Rooney, A. P. (2019).** Bioactivity of wild carrot (*Daucus carota*, Apiaceae) essential oil against mosquito larvae. *Journal of Medical Entomology*, **56**, 784-789.
- Nast, J. (1987).** The Auchenorrhyncha (Homoptera) of Europe. In *Annales Zoologici*, **40**, 536-661.
- Nicoletti, M., Serafini, M., Aliboni, A., D'Andrea, A. & Mariani, S. (2010).** Toxic effects of neem cake extracts on *Aedes albopictus* (Skuse) larvae. *Parasitology Research*, **107**, 89-94.
- Öztemiz, S. (2018).** *Ricania japonica* (Hemiptera: ricaniidae): found in the western Black Sea, Turkey. *Munis Entomology & Zoology*, **13**, 326-328. URL: <https://docplayer.biz.tr/6123873-Munis-entomology-zoology.html>
- Rauha, J.P., Wolfenderb, J.C., Saminen, J.P., Pihlaja, K., Hostettmann, K. & Vuorela, H. (2001).** Characterization of the polyphenolic composition

- of Purple Loosestrife (*Lythrum salicaria*). *Zeitschrift für Naturforschung C*, **56**, 13-20.
- Saeedi, M. & Morteza-Semnani, K. (2009)**. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Heliotropium europaeum*. *Chemistry of Natural Compounds*, **45**, 98-99.
- Saeidnia, S., Sarkhail, P., Moradi-Afropoli, F., Gohari, A.R., Nikan, M., Mokhber-Defruzi, N., Amin, G.R. & Hadjiakhoondi, A. (2014)**. GC/Mass analysis of the volatile compounds of *P. hyrcanicum* diethyl ether extract and GC profiling of some Iranian *Polygonum* species. *Research Journal of Pharmacognosy*, **1**, 3-7.
- Salem, M., Hussain, D., Rashid, R.H., Salem, H.M., Ghouse, G. & Abbas, M. (2013)**. Insecticidal activities of two citrus oils against *Tribolium castaneum* (herbst). *American Journal of Research Communication*, **1**, 67-74.
- Sarıkaya, A.G. & Fakir, H. (2017)**. Volatile Components of Leaves 2nd Flowers of *Phlomis leucophracta* P. H. Davis & Hub.-Mor. and *Phlomis lycia* D. Don Grown in Goynuk Province (Antalya). *Journal of Bartın Faculty of Forestry*, **19**, 69-73.
- Sarker, S. & Lim, U.T. (2018)**. Extract of *Nicotiana tabacum* as a potential control agent of *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *PloS One*, **13**, e0198302.
- Sefidkon, F. & Khajavi, M.S. (1999)**. Chemical composition of the essential oils of two *Salvia* species from Iran: *Salvia verticillata* L. and *Salvia santolinifolia* Boiss. *Flavour and Fragrance Journal*, **14**, 77-78.
- Shcherbakov, D.E. (2006)**. The earliest find of Tropiduchidae (Homoptera: Auchenorrhyncha), representing a new tribe, from the Eocene of Green River, USA, with notes on the fossil record of higher Fulgoroidea. *Russian Entomological Journal*, **15**, 315-322.
- Tabanca, N., Demirci, B., Aytaç, Z. & Baser, K.H.C. (2017)**. The chemical composition of *Salvia verticillata* L. subsp. *verticillata* from Turkey. *Natural Volatiles & Essential Oils*, **4**, 18-28.
- Taşdemir, D., Demirci, B., Dönmez, A.A., Başer, K.H.C. & Rueedi, P. (2003)**. Analysis of the volatile components of five Turkish *Rhododendron* species by headspace solid-phase microextraction and GC-MS (HS-SPME-GC-MS). *Zeitschrift fuer Naturforschung*, **58**, 797-803.
- Usta, A., Yaylı, B., Kahrınman, N., Karaoğlu, S.A. & Yaylı, N. (2012)**. Composition and antimicrobial activity of essential oil from the flower of *Rhododendron luteum* Sweet. *Asian Journal of Chemistry*, **24**, 1927-1930.
- Yaylı, N., Tosun, G., Yaylı, B., Gündoğan, Z., Coşkuncelebi, K. & Alpay K. Ş. (2016)**. Altitude variation in the composition of essential oils, fatty acid methyl esters, and antimicrobial activities of two subspecies of *Primula vulgaris* Grown in Turkey. *Natural Product Communications*, **11**, 1505-1510.



Some Morphometric Relationships of Wels Catfish (*Silurus glanis* L., 1758) Inhabiting Sıddıklı Dam Lake (Kırşehir, Turkey)

Ramazan YAZICI^{1*} Okan YAZICIOĞLU²

¹Laborant and Veterinary Health Program, Veterinary Department, Çiçekdağı Vocational School, Kırşehir Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey

² Department of Plant and Animal Production, Vocational School of Technical Sciences, Kırşehir Ahi Evran University, Kırşehir, Turkey

Geliş/Received: 12.04.2020

Kabul/Accepted: 31.05.2020

How to cite: Yazıcı, R. & Yazicioğlu, O. (2020). Some Morphometric Relationships of Wels Catfish (*Silurus glanis* L., 1758) Inhabiting Sıddıklı Dam Lake (Kırşehir, Turkey). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 199 -204.

Atıf yapmak için: Yazıcı, R. & Yazicioğlu, O. (2020). Sıddıklı Baraj Gölü (Kırşehir, Türkiye)'nde Yaşayan Yayın Balığı (*Silurus glanis* L., 1758)'nin Bazı Morfometrik İlişkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 199 -204.

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2274-0707>
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4302-2181>

***Corresponding author's:**

Ramazan YAZICI
Laborant and Veterinary Health Program,
Veterinary Department, Çiçekdağı Vocational
School, Kırşehir Ahi Evran University,
Kırşehir, Turkey, ADDRESS
✉: rmznyzci@gmail.com
Mobile telephone : +90 (541) 717 75 73
Telephone : +90 (386) 280 55 10
Fax : +90 (386) 280 40 40

Abstract: This study aims to investigate the relationships among morphometric characters of Wels catfish with total length and find the best model to assess relationships. A total of 198 fish samples was caught in Sıddıklı Dam Lake between September 2015 and August 2016 in this study. The morphometric measures taken were: Total length (TL), Anal fin length (AFL), pectoral fin rays length (PFRL), body height (BH), head length (HL), and head height (HH). No significant differences were noted between the pectoral fin rays (PFRL) of females and males, while the significant differences were observed in the other morphometric measurements (TL, AFL, BH, HL, and HH) of females and males. The linear and non-linear model were used to determine relationships between morphometric characters and total length. The linear model is the best fit for all relationships, so this model is preferred for all calculates. All relationships were highly significant ($P < 0.001$, $r^2 > 0.81$) and the mean percent prediction errors were less than 10%. We found that AFL, PFRL, BH, HL, and HH are a good indicator for fish total length and are important for determining the length of Wels catfish. However, the best model was the relationship between anal fin length and total length for estimation of fish length in males and females. The data of the study provides novel information on relationships between morphometric characters for Wels catfish.

Keywords: Linear relationships, morphometric characters, Sıddıklı dam lake, wels catfish.

Sıddıklı Baraj Gölü (Kırşehir, Türkiye)'nde Yaşayan Yayın Balığı (*Silurus glanis* L., 1758)'nin Bazı Morfometrik İlişkileri

Öz: Bu çalışmada yayın balığının morfometrik karakterleri ile total boyu arasındaki ilişkileri araştırmak ve ilişkileri değerlendirmek için en iyi modeli bulmak amaçlanmıştır. Bu çalışmada, Eylül 2015 ile Ağustos 2016 yılları arasında Sıddıklı Baraj Gölü'nde toplam 198 balık örneği yakalanmıştır. Alınan morfometrik ölçüler şunlardır: total boy (TL), anal yüzgeç uzunluğu (AFL), pectoral yüzgeç uzunluğu (PFRL), vücut yüksekliği (BH), kafa uzunluğu (HL) ve kafa yüksekliği (HH). 'Dişi ve erkeklerin pektoral yüzgeç ışınları (PFRL) arasında anlamlı bir fark gözlenmezken, diğer morfometrik ölçümlerde (TL, AFL, BH, HL ve HH) anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. Morfometrik karakterler ile total boy arasındaki ilişkileri belirlemek için doğrusal ve doğrusal olmayan modeller kullanılmıştır. Doğrusal modelin tüm ilişkiler için en uygun olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle bu model tüm hesaplamalar için tercih edilmiştir. Tüm ilişkiler yüksek derecede anlamlı olup ($P < 0.001$, $r^2 > 0.81$) ortalama yüzde tahmin hatalarının % 10'dan daha az olduğu saptanmıştır. AFL, PFRL, BH, HL ve HH'nin balık total boyunun iyi bir göstergesi olduğu ve yayın balığı boyunu belirlemek için önemli olduğu tespit edilmiştir. Ancak, erkek ve dişilerde balık boyunun tahmini için en iyi model anal yüzgeç uzunluğu ile total boy arasındaki ilişkidir. Çalışmanın verileri, yayın balığı için morfometrik karakterler arasındaki ilişkiler hakkında yeni bilgiler sunmaktadır.

***Sorumlu yazar:**

Ramazan YAZICI
Laborant ve Veteriner Sağlık Programı,
Veterinerlik Bölümü, Çiçekdağı Meslek
Yüksekokulu, Kırşehir Ahi Evran
Üniversitesi, Kırşehir, Türkiye
✉: rmznyzci@gmail.com
Cep telefonu : +90 (541) 717 75 73
Telefon : +90 (386) 280 55 10
Faks : +90 (386) 280 40 40

Anahtar kelimeler: Linear ilişkiler, morfometrik karakterler, Sıddıklı baraj gölü, yayın balığı.

INTRODUCTION

One of the major keys in fish biology study is morphometric characters since these characters use to understanding taxonomy and anatomy (Ünlü et al., 2012), growth variability (Jawad & Al-Janabi, 2016), sexual differences (Gogoi & Goswami, 2015), and stock status (Alhassan et al., 2015) of fish. In general, morphological features were indicated diversity both within and between fish populations. Morphometric characters considered as measurable structures and are characters describing different external body parts of fish. These characters commonly used in fish biology studies to measure discreteness between different fish stocks (Qadri et al., 2017), and to detect phylogeny of the fish population (Turan, 2004).

The morphometric relationships between different body characters of fish can be used to assess the well-being of individuals and to determine possible differences between separate unit stocks of the same species (King, 2007). The relationships between morphometric characters can be a tool to estimate back-calculate fish length from morphometric characters (Bostancı et al., 2014). Morphometry studies covered these relationships provide important information in the fish biology field including species diet, feeding behavior, ecological strategies, niche partitioning, habitat use and trophic structure.

The objectives of this study are to: i: reveal equations of relationships between morphometric characters

and fish length, ii: test the accuracy of the back-calculated lengths using predictive equations. Moreover, this manuscript ensures the first information on the morphometrics relationships of *Silurus glanis*.

MATERIAL AND METHODS

Sıddıklı Dam Lake located near 40 km west of Kırşehir province was built for irrigation purposes. The volume of Sıddıklı Dam Lake is 28.5 hm³, surface area is 1.65 km², body height is 53 m and was completed in 1998. It was put into operation in 2009 (Yazıcı, 2018).

A total of 198 fish samples collected between September 2015 and August 2016 in Sıddıklı Dam Lake were examined for analyzing relationships between some measurable morphometric characters and fish length. Samples were caught by using gills nets with a mesh size ranging from 17 to 35 mm 50 m long and 40 to 80 mm 100m long. The six measurements of the morphometric characters were given in Table 1. The total length (TL) of each fish specimens were measured with approximately 0.1 cm precision. The morphometric characters were taken by using a digital caliper. The sex of samples was detected by the examination of gonads macroscopically.

Table 1. Definitions of morphometric measurements of Wels catfish in Sıddıklı Dam Lake.

Morphometric character	Abbreviation	Description on Fish
Total length	TL	from tip of snout to the end of the caudal fin
Anal fin length	AFL	distance measured in a straight line between the anterior most and posterior most junctions with the body.
Pectoral fin rays length	PFRL	the length of the longest fin ray of pectoral fin.
Body height	BH	maximum depth of body
Head length	HL	the length from the nostril tip of nose to the back end of the opercular bone.
Head height	HH	distance along the broadest part of the head in ventral position.

Linear ($y = a+bx$) and non-linear ($y = a*x^b$) regression equations were used to determine what equations best described the relationships between morphometric characters and fish length. The model with the highest coefficient of determination (r^2) was chosen to describe these relationships. Where 'y' is the dependent variable, 'x' is the independent variable, 'a' is a constant (intercept) and 'b' the regression coefficient (slope). The mean percent prediction errors for each regression were determined averaging the percent prediction error calculated for each observation. The percent prediction error (% PE) for an individual is computed by the following formula (Scharf et al., 1998):

$$\%PE = \frac{|Observed - Predicted|}{Predicted} \times 100$$

The t-test was used to compare the outcomes of morphometric measurements between sexes. Paired t-test

was used for determining the difference in measurements of left and right pectoral fin rays length. Differences between coefficients of regressions generated separately for females and males were tested by analysis of covariance (ANCOVA) (Zar, 1999). All data were analyzed using the Minitab 17 software program. All the statistical analyses were considered at the significance level of 5% ($P<0.05$).

RESULTS

A total of 198 (female= 98, male= 100) samples were analyzed for morphometric relationships. However, a total of 171 (female= 78, male= 93) Wels catfish samples were used for the relationship between pectoral fin rays length (PFRL) and total length (TL) owing to damaged and lost pectoral fin rays.

The descriptive statistics of fish length (TL) and measurable morphometric characters (AFL, BH, HL, and HH) are given in Table 2. The significant differences were observed in the morphometric measurements (TL, AFL, BH, HL, and HH) of females and males (t-test, $p < 0.05$, Table 2). Hence, regressions were generated separately according to both sexes (Figure 1). No significant differences were determined between the slopes “b” of TL-AFL, TL-BH, TL-HL, and TL-HH relationships in females and males (ANCOVA, $p > 0.05$).

Table 2. The descriptive statistics of fish total length (TL, cm), anal fin length (AFL, cm), body height (BH, cm), head length (HL, cm) and head height (HH, cm) of Wels catfish sampled from Siddikli Dam Lake.

Variable	Sex	n	Mean± Sd	Min-Max	t-test
TL	Female	98	55.76±13.11	21.80-107.50	$p < 0.05$
	Male	100	60.33±16.79	20.10-151.60	
AFL	Female	98	30.54±6.96	11.90-56.10	$p < 0.05$
	Male	100	33.55±9.10	11.00-83.80	
BH	Female	98	8.36±2.56	2.60-22.40	$p < 0.05$
	Male	100	9.17±3.33	2.10-29.40	
HL	Female	98	10.28±2.71	4.00-20.50	$p < 0.05$
	Male	100	11.23±3.43	3.80-31.80	
HH	Female	98	4.25±1.26	1.10-8.70	$p < 0.05$
	Male	100	4.66±1.52	1.10-14.20	

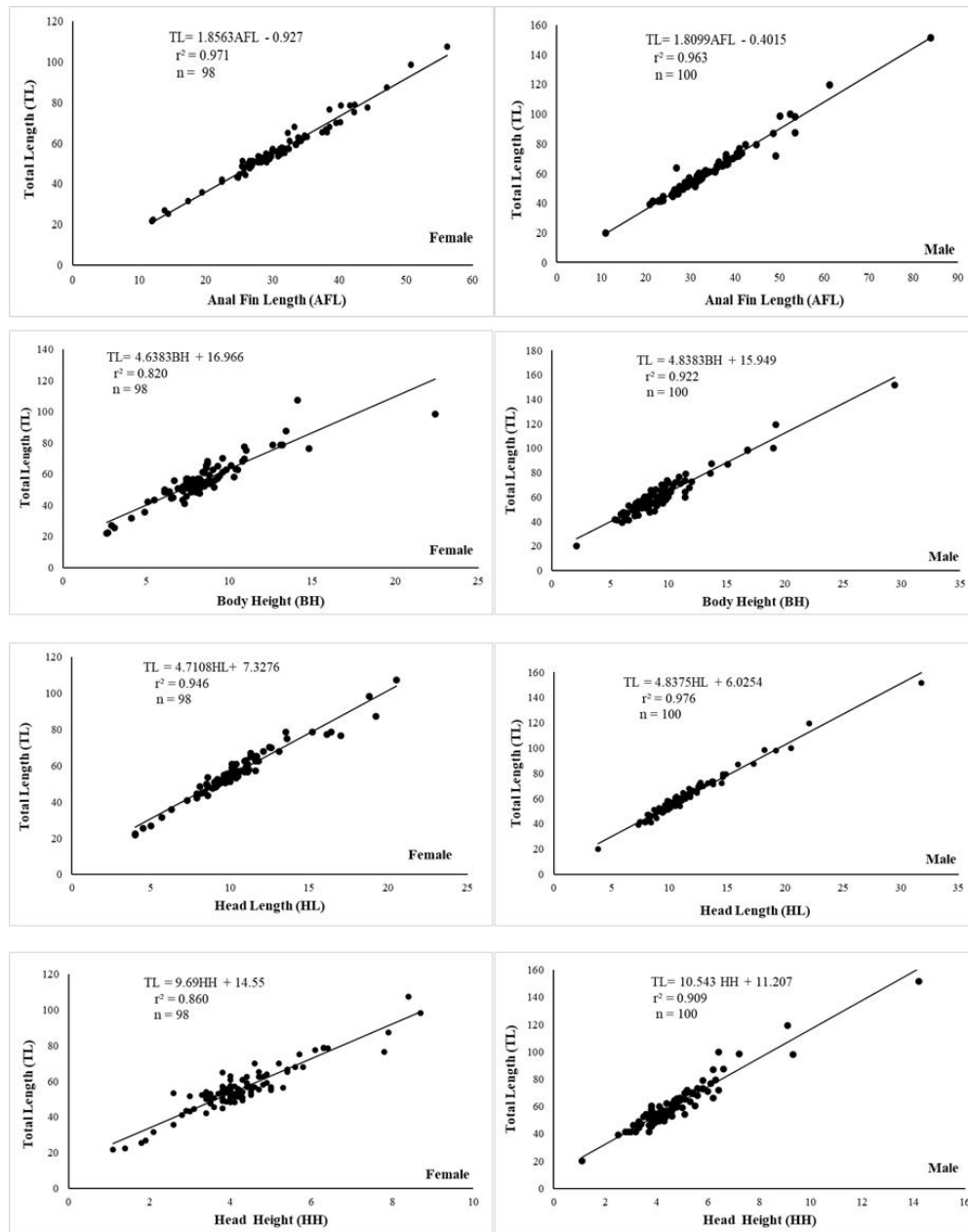


Figure 1. The relationships between morphometric characters and total length in females and males of Wels catfish.

The descriptive statistics of fish length (TL) and pectoral fin rays length (PFRL) are summarized in Table 3.

There was no significant difference between the right and left pectoral fin ray length (paired t-test, $p > 0.05$) (Table 3).

Table 3. The descriptive statistics of fish total length (TL, cm) and pectoral fin rays length (PFRL, cm) of Wels catfish sampled from Siddıklı Dam Lake.

Variable	Sex	n	Mean± Sd	Min-Max	t-test
TL	Female	78	57.11±13.74	21.80-107.50	p>0.05
	Male	93	59.80±14.21	20.10-119.50	
	Total	171	58.57±14.02	20.10-119.50	
PFRL	Female	78	4.08±1.19	1.10-8.40	p>0.05
	Male	93	4.25±1.18	1.00-9.10	
	Total	171	4.17±1.18	1.00-9.10	

Therefore, the right pectoral fin rays lengths were chosen for the generation of regression equations. No significant difference was also observed in the pectoral fin rays length between females and males (t-test, p>0.05). Therefore, the variables were pooled for further analysis (Figure 2).

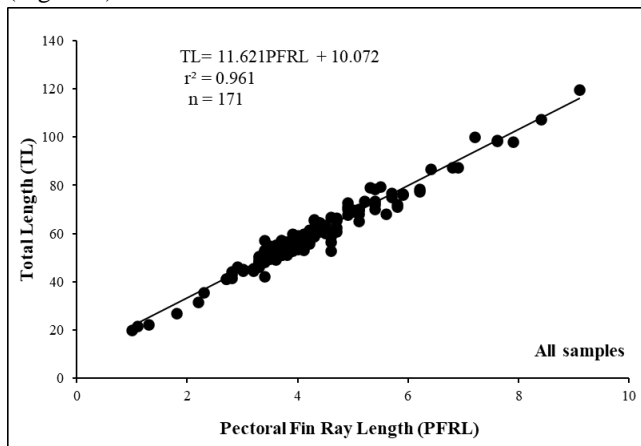


Figure 2. The relationship between pectoral fin ray length and total length in all samples.

Table 4. The mean percent prediction error (%PE) values for morphometric characters in *S. glanis* from Siddıklı Dam Lake.

Variable	Sex	n	Observed TL (cm)		Predicted TL (cm)		%PE	
			Range	Mean±SD	Range	Mean±SD	Range	Mean±SD
AFL	Female	98	21.80-107.50	55.76±13.11	21.16-103.21	55.76±12.92	0.011-12.187	2.941±2.374
	Male	100	20.10-151.60	60.33±16.79	19.51-151.27	60.33±16.48	0.018-32.214	2.960±3.952
BH	Female	98	21.80-107.50	55.76±13.11	29.03-120.86	55.76±11.88	0.000-30.515	7.048±5.971
	Male	100	20.10-151.60	60.33±16.79	26.11-158.20	60.33±16.12	0.152-23.016	6.290±4.771
HL	Female	98	21.80-107.50	55.76±13.11	26.17-103.90	55.76±12.76	0.012-16.701	3.886±3.657
	Male	100	20.10-151.60	60.33±16.79	24.41-159.86	60.33±16.59	0.009-17.650	3.433±3.657
HH	Female	98	21.80-107.50	55.76±13.11	25.21-98.85	55.76±12.16	0.087-34.360	7.216±6.041
	Male	100	20.10-151.60	60.33±16.79	22.80-160.92	60.33±16.01	0.113-27.094	5.894±4.745
PFRL	Total	171	20.10-119.50	58.57±14.02	21.69-115.82	58.57±13.74	0.009-16.730	3.606±3.151

DISCUSSION

There were several researches on the age (Yılmaz et al. 2007; Saylar, 2009; Alp et al., 2011; Saylar, 2014), growth (Carol et al., 2009; Copp et al., 2009; Uysal et al., 2009; Alp et al., 2011), reproduction (Yazıcı et al., 2018), morphological characters (Ünlü et al., 2012), and the diet (Czarnecki et al., 2003; Bora & Gul, 2004; Alp, 2017) of Wels catfish. However, no studies were conducted on the morphometric biometry of this species. Therefore, this study presents the first data on this subject in Wels catfish.

Generally, linear functions are preferred and mostly used to determine the relationship between body

The coefficient (r^2) of linear relationships was higher than non-linear relationships. The linear regression model provided the best fit for all relationships. For this reason, linear relationships were established for morphometric analysis. The mean values of all morphometric characters in male individuals were higher than females (Table 2 and 3). The coefficients (r^2) of all linear regressions in males were calculated as higher than females, except anal fin length (AFL) (Figure 1). All regression analyses were highly significant ($P<0.001$) and analysis of morphometric characters versus TL indicated that the regression models explained more than 82% of the variance (Figure 1). Morphometric characters of Wels catfish were positively relevant to fish length, with r^2 values ranging between 0.820 and 0.977. According to sex, the best fit relationships were found between AFL-TL, and HL-TL among all morphometric characters. The fish total length (TL) was determined as approximately 1.81 times (TL/AFL) of anal fin length for the entire sample.

The mean percent prediction errors ranged from 2.941 to 7.216. The anal fin length (AFL) had the lowest value of mean %PE in females, while head width (HH) had the highest value of mean %PE in females (Table 4). The regression with high r^2 yielded had the lowest mean % PE values (Table 4). For all morphometric characters, there was no significant difference between observed and predicted TL values in both females (t-test; p>0.05) and males (t-test; p>0.05).

dimensions and length of the fish (Begum et al., 2008; Šantić et al., 2011; Jawad & Al-Janabi, 2016). In this study, both linear and non-linear models were analyzed for defining the relationships between morphometric variables and fish length. Linear model was provided higher regression coefficient than non-linear model for all relationships. Consequently, linear model was preferred for our analysis. Similarly, these relationships in many previous studies were also defined using this model for various fish species (Hajje et al., 2011; Keč & Zorica, 2011; Balai et al., 2017).

One of the major keys in fish biology is morphometric characters since morphometric analysis

included these characters plays a key role to estimate relationships among various body parts. Morphometric characters in female and male may not provide the same result in back-calculation of fish length (Begum et al., 2008). In current study, results of testing the difference between the measurements of morphometric characters in females and males showed significant difference. Thus, the regressions were generated separately according to both sexes. These results agree with results of other studies (Begum et al., 2008; Amin et al., 2014; Yilmaz et al., 2014). On the other hand, there were no sexual differences in relationships between pectoral fin length and total length. So, the measurements of males and females were pooled to calculate this relationship.

Differences in the measurement data of same body parts mostly depend on the fish samples quality. Damages as morphological can be seen in fish (e.g. lost or damaged body part such as anal fin, tail, and body length). This status may make measurements difficult. Measurements from intact body parts can be used to calculate length of other body parts. The results of study suggested that the all morphometric relationships are well suited to the prediction of fish length. Among relationships, the anal fin length and head length measurements are important for determining the total length of Wels catfish.

In conclusions, the results of current study show that there are difference morphometric characters in males and females. This situation may indicate that there is a difference in the growth of the characters mentioned in the female and male. The distinction between male and female is important for fisheries management, stock assessment, paleontological studies, population dynamics, and growth parameters. Furthermore, this study provides the first data on relationships between morphometric characters and total length in Wels catfish. These relationships are a helpful tool in predicting fish total length from morphometric characters and useful for studies on food and feeding, prey-predator relationships, as well as for paleontological studies.

REFERENCES

- Alhassan, E.H., Akongyuure, D.A. & Asumang, F. (2015).** Determination of morphometric relationship and condition factors of four Cichlids from Golinga reservoir in northern region of Ghana. *OnLine Journal of Biological Sciences*, *15*(3), 201-206. DOI: [10.3844/ojbsci.2015.201.206](https://doi.org/10.3844/ojbsci.2015.201.206).
- Alp, A., Kara, C., Üçkardeş, F., Carol, J. & García-Berthou, E. (2011).** Age and growth of the European catfish (*Silurus glanis*) in a Turkish Reservoir and comparison with introduced populations. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, *21*(2), 283-294. DOI: [10.1007/s11160-010-9168-4](https://doi.org/10.1007/s11160-010-9168-4).
- Alp, A. (2017).** Diet Shift and Prey Selection of the Native European Catfish, *Silurus glanis*, in a Turkish Reservoir. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, *3*(1), 15-23. DOI: [10.17216/limnofish.288217](https://doi.org/10.17216/limnofish.288217).
- Amin, M.R., Mollah, M.F. & Taslima, K. (2014).** Morphological observation and length-weight relationship of critically endangered riverine catfish *Rita rita* (Hamilton). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *17*(2), 234-240. DOI: [10.3923/pjbs.2014.234.240](https://doi.org/10.3923/pjbs.2014.234.240)
- Balai, V.K., Sharma, L.L. & Ujjania, N.C. (2017).** Morphometric relationship of Indian major carps (*Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*) from Jaisamand Lake, Udaipur (India). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *5*(3), 547-550.
- Begum, M., Al-Mamun, A., Islam, M.L. & Alam, M.J. (2008).** Morphometric characters and their relationship in estuarine catfish. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*, *6*(2), 349-353.
- Bora, N.D. & Gül, A. (2004).** Feeding biology of *Silurus glanis* (L., 1758) living in Hirfanlı Dam Lake. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *28*(3), 471-479.
- Bostancı, D., Yağcı, M., Konaş, S., Kurucu, G. & Polat, N. (2014).** İstilacı Bir Tür *Atherina boyeri* Risso, 1810'nin Eğirdir Gölü Popülasyonunda Morfometrik ve Bazı Kemiksi Yapıların Biyometrik Özellikleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, *10*(1), 1-11. DOI: [10.22392/egirdir.246375](https://doi.org/10.22392/egirdir.246375).
- Carol, J., Benejam, L., Benito, J. & García-Berthou, E. (2009).** Growth and diet of European catfish (*Silurus glanis*) in early and late invasion stages. *Fundamental and Applied Limnology*, *174*(4), 317-328. DOI: [10.1127/1863-9135/2009/0174-0317](https://doi.org/10.1127/1863-9135/2009/0174-0317).
- Copp, G.H., Robert Britton, J., Cucherousset, J., García-Berthou, E., Kirk, R., Peeler, E. & Stakénas, S. (2009).** Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced ranges. *Fish and fisheries*, *10*(3), 252-282. DOI: [10.1111/j.1467-2979.2008.00321.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-2979.2008.00321.x)
- Czarnecki, M., Andrzejewski, W. & Mastynski, J. (2003).** The feeding selectivity of wels (*Silurus glanis* L.) in Lake Góreckie. *Archives of Polish Fisheries*, *11*(1), 141-147.
- Gogoi, R. & Goswami, U.C. (2015).** Morphometric and meristic study of *Amblypharyngodon mola* (Ham-

- Buch) from different habitats of Assam. *Annals of Biological Research*, **6**(2), 10-14.
- Hajjej, G., Hattour, A., Allaya, H., Jarboui, O., Mourad, C. & Bouain, A. (2011).** Biometry, Length-length and Length-weight relationships of little tunny *Euthynnus alletteratus* in the Tunisian Waters. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, **6**(3), 256-263. DOI: [10.3923/jfas.2011.256.263](https://doi.org/10.3923/jfas.2011.256.263).
- Jawad, L.A. & Al-janabi, M.I. (2016).** Morphometric characteristics of catfish *Silurus triostegus* heckel, 1843 from the tigris and shatt al-arab rivers, IRAQ. *Croatian Journal of Fisheries*, **74**(4), 179-185.
- Keč, V.Č. & Zorica, B. (2011).** Biometry markers of chub mackerel, *Scomber japonicus* Houttuyn, 1782, in the Adriatic Sea. *Acta Adriatica*, **52**(2), 215-222.
- King, M. (2007).** Fisheries biology, assessment and management. Second Edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford: 1-381.
- Qadri, S., Shah, T.H., Balkhi, M.H., Bhat, B.A., Bhat, F.A., Najar, A.M. & Alia, S. (2017).** Morphometrics and length-weight relationship of *Schizothorax curvifrons* Heckel 1838 in River Jhelum, Kashmir, India. *Indian Journal of Animal Research*, **51**(3), 453-458.
- Saylar, Ö. (2009).** Kabalar Göleti (Taşköprü/Kastamonu-Türkiye)'nde yaşayan yayın balığı (*Silurus glanis* L., 1758)'nin çeşitli oluşumları kullanılarak yaşının belirlenmesi. *Kastamonu Üniversitesi Kastamonu Eğitim Dergisi*, **2**, 659-664.
- Saylar, Ö. (2014).** Comparative Age Determination Methods of *Silurus glanis* L., 1758 Living in Altinkaya Dam Lake According to Their Bony Structures. *The Journal of Adyutayam*, **2**(2), 1-7.
- Šantić, M., Rađa, B., Paladin, A. & Čurić, A. (2011).** Biometric properties of the European hake, *Merluccius merluccius* (Osteichthyes: Merlucciidae), from the central Adriatic Sea. *Archives of Biological Sciences*, **63**(1), 259-267.
- Scharf, F.S., Yetter, R.M., Summer, A.P. & Juanes, F. (1998).** Enhancing diet analyses of piscivorous fishes in the Northwest Atlantic through identification and reconstruction of original prey sizes from ingested remains. *Fishery Bulletin*, **96**, 575-588.
- Turan, C. (2004).** Stock identification of Mediterranean horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) using morphometric and meristic characters. *ICES Journal of Marine Science*, **61**, 774-781. DOI: [10.1016/j.icesjms.2004.05.001](https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2004.05.001).
- Ünlü, E., Değer, D. & Cicek, T. (2012).** Comparison of morphological and anatomical characters in two catfish species, *Silurus triostegus* Heckel, 1843 and *Silurus glanis* L., 1758 (Siluridae, Siluriformes). *North-Western Journal of Zoology*, **8**(1), 119-124.
- Uysal, R., Apaydın Yağci, M., Yeğen, V., Cesur, M., Yağci, A., Çetinkaya, S. & Bostan, H. (2009).** Growth Properties of European Catfish (*Silurus glanis* L., 1758) Population in İznik Lake (Bursa-Turkey). *Journal of Natural and Applied Sciences*, **13**(3), 221-228.
- Yazıcı, R. (2018).** *Biological properties of the Wels Catfish (Silurus glanis L., 1758) from Siddıklı Küçükboğaz Dam Lake*. Kırşehir Ahi Evran University. Kırşehir, Turkey, 154p.
- Yazıcı, R., Yılmaz, M. & Yazicioğlu O. (2018).** Reproduction Properties of Wels Catfish (*Silurus glanis*, L., 1758) Inhabiting Siddıklı Reservoir. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, **4**(2), 112-117. DOI: [10.17216/LimnoFish.415933](https://doi.org/10.17216/LimnoFish.415933).
- Yılmaz, S., Yılmaz, M. & Polat, N. (2007).** Altinkaya Baraj Gölü (Samsun-Türkiye)'nde Yaşayan Yayın Balığı (*Silurus glanis* L., 1758)'nin Yaşı İçin Farklı Kemiksi Yapıların Değerlendirilmesi. *Fırat Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **19**(1), 7-11.
- Yılmaz, S., Yazicioğlu, O., Saygin, S. & Polat, N. (2014).** Relationships of otolith dimensions with body length of European perch, *Perca fluviatilis* L., 1758 from Lake Ladik, Turkey. *Pakistan Journal of Zoology*, **46**(5), 1231-1238.
- Zar, J.H. (1999).** Biostatistical Analysis. 4th ed. Upper Saddle River, NJ, USA: Prentice Hall.



Afyonkarahisar İlinde Eğitim Gören Lise Öğrencilerinin Balık Tüketim Davranışlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma

Hasan YİĞİT^{1*} Taçnur BAYGAR¹ Yunus ALPARSLAN¹ Emrah Gökay ÖZGÜR²
1 Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Muğla, Türkiye.

2 Ankara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.

Geliş/Received: 12.02.2020

Kabul/Accepted: 05.06.2020

Atf yapmak için: Yiğit, H., Baygar, T., Alparslan, Y. & Özgür, E.G. (2020). Afyonkarahisar İlinde Eğitim Gören Lise Öğrencilerinin Balık Tüketim Davranışlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 205-211.

How to cite: Yiğit, H., Baygar, T., Alparslan, Y. & Özgür, E.G. (2020). A Study on Determination Fish Consumption Behaviour of High School Students Studying in Afyonkarahisar Province. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 205-211.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-1871-3626>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-8070-0653>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-8833-996X>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-3966-4184>

***Sorumlu yazarın:**

Hasan YİĞİT
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su
Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve
İşleme Teknolojisi Bölümü, Muğla, Türkiye
✉: hasanyigit9@hotmail.com
Cep telefonu : +90 (535) 652 85 89
Telefon : +90 (248)232 69 99-6641
Faks : +90 (248) 232 64 24

Öz: Bu çalışma Afyonkarahisar ilinde eğitim gören lise öğrencilerinin su ürünleri tüketim alışkanlıklarının ve tercihlerinin ortaya konulması amacıyla yapılmıştır. Anket sonuçlarına göre; öğrencilerin et tüketiminde, ilk tercihlerinin kırmızı et (%64,43), ikinci tercihlerinin tavuk eti (%61,24), üçüncü tercihlerinin ise balık eti (%22,82) olduğu tespit edilmiştir. Öğrencilerin %90,10'u balık tüketirken, %9,90'nı tüketmediklerini belirtmişlerdir. Balık tüketen öğrencilerin %34,64'ü haftada bir kez ve %7,45'i ise haftada bir defadan fazla tükettiklerini bildirmişlerdir. Öğrenciler en çok hamsi balığını tüketirken, sardalya balığını ise hiç tüketmedikleri anlaşılmıştır. Hiç balık yemeyen öğrencilerin %50'si kokusundan dolayı tüketmezken, %57,73'ü ise sağlıklı ve dengeli beslenmek için balık etini tükettiğini bildirmişlerdir. Öğrencilerin balığı daha çok taze (%95,65) veya dondurulmuş (%6,33) olarak tükettikleri belirlenmiştir. Balık pişirme yöntemi olarak, ilk tercihin kızartma (%86,41) ve ikinci tercihin ise ızgara (%31,84) olduğu tespit edilmiştir. Su ürünleri temin yerleri olarak, daha çok %67,97 ile semt (halk) pazarı ve %24,95 ile balıkçı dükkânı/seyyar satıcısı (mahalle balıkçısı) tercih edildiği saptanmıştır. Kişi başı yıllık ortalama balık tüketim miktarı 7,35 kg olarak hesaplanmıştır. Bu sonucun dünya ortalamasının oldukça altında olmasına rağmen Türkiye ortalamasının üzerinde olması umut verici olarak görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Afyonkarahisar, anket, balık tüketimi, lise, öğrenci.

A Study on Determination Fish Consumption Behaviour of High School Students Studying in Afyonkarahisar Province

Abstract: This study was carried out in order to reveal the habits and preferences of seafood consumption of high school students studying in Afyonkarahisar province. According to the survey results; it has been determined that, in the meat consumption of the students, the first choice was red meat (64.43%), the second choice was chicken meat (61.24%), and the third choice was fish meat (22.82%). While 90.10% of the students consumed fish, 9.90% stated that they did not consume it. Of the students who consumed fish, 34.64% reported consuming it once a week and 7.45% reported consuming it more than once a week. While the students consumed the most anchovy fish, it was understood that they did not consume sardine fish at all. Fifty percent of the students who do not eat fish do not consume because of their smell, while 57.73% reported that they consume fish meat for a healthy and balanced diet. It has been determined that students consumed more fish as fresh (95.65 %) or frozen (6.33%). As a method of cooking fish, it has been determined; that the first choice was fried (86.41%) and the second choice was grill (31.84%). It has been determined that 67.97% preferred the local (public) marketplace and 24.95% preferred the local fisherman's shop/peddler (local fisherman's) as fisheries supply locations. The average yearly fish consumption per capita was calculated as 7.35 kg. Although this result is well below the world average, the fact that it is above the Turkey average is seen as promising.

***Corresponding author's:**

Hasan YİĞİT
Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of
Fisheries, Department of Fisheries Fishing
and Processing Technology, Muğla, Türkiye
✉: hasanyigit9@hotmail.com
Cep telefonu : +90 (535) 652 85 89
Telefon : +90 (248)232 69 99-6641
Faks : +90 (248) 232 64 24

Keywords: Afyonkarahisar, survey, fish consumption, high school, student.

GİRİŞ

18 yaş altı çocukların bedensel ve zihinsel gelişimleri başta olmak üzere insanların beslenmesinde büyük bir öneme sahip olan su ürünlerinin, kişi başına düşen tüketim miktarı açısından günlük fizyolojik gereksinimler doğrultusunda yeterli bir düzeye çıkarılması oldukça önemlidir.

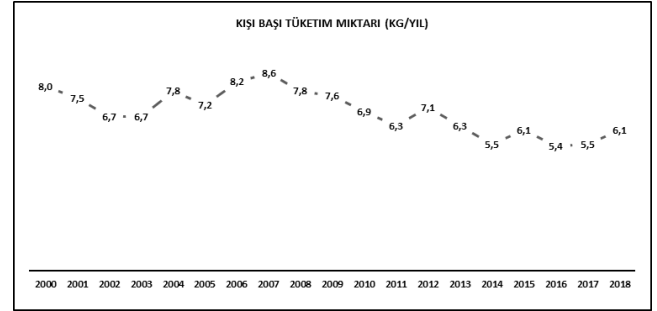
Su ürünlerinin sağlık ve beslenme açısından değeri tüketici tarafından bilinmektedir. Üç tarafı denizlerle çevrili bir yarımada konumunda olan Türkiye'nin 8.333 km kıyı şeridi ve 177.714 km uzunluğunda nehirleri ile su kaynaklarının fiziki büyüklüğü itibarıyla su ürünleri ve balıkçılık üretimine uygun zengin su kaynaklarına sahiptir (OKA, 2013). Ülkemiz su ürünleri üretiminin 2018 yılında 628.631 ton olarak gerçekleşmiş olup kişi başı ortalama yıllık balık tüketiminin 2018 yılında 6,14 kg olarak gerçekleşmesi oldukça manidardır (TÜİK, 2019). Şekil 1'de de görüldüğü gibi ülkemizde kişi başı ortalama balık tüketim miktarı yıllara göre dalgalanmalar göstermektedir.

Dünyada kişi başına yıllık ortalama balık tüketim miktarı incelendiğinde, 2016 yılı verilerine göre Japonya'da 45,30 kg, Endonezya'da 30,50 kg Çin'de 38,90 kg, Rusya'da 20,80 kg, Norveç'te 50 kg, Portekiz'de 57,10 kg ve İzlanda'da 91,30 kg olurken (FAO, 2017), 2015 yılında Avrupa'da 22,50 kg, Kuzey Amerika'da 21,60 kg, Asya'da 24 kg, Afrika'da 9,90 kg, gelişmiş ülkelerde 24,90 kg, az gelişmiş ülkelerde 12,60 kg ve dünya ortalaması ise 20,20 kg olarak gerçekleşmiştir (FAO, 2018). Bu durum göz önüne alındığında ülke olarak balık tüketimi konusunda çok gerilerde olduğumuz daha iyi anlaşılmaktadır.

Ülkemizde su ürünleri tüketiminin tespitine yönelik çalışmalarda balık tüketim alışkanlıkları, illere, illerin deniz kenarında olup olmamasına, il sınırları içerisinde göl, gölet, baraj vb. sulak alanlarda balıkçılık faaliyeti olup olmamasına, kültür balıkçılığı yapılan çiftliklerin olup olmamasına göre farklılık gösterdiği ayrıca mevsimlere, sosyo-ekonomik koşullara, kültürel farklılıklara, geleneksel damak tadına ve beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak tüketilen su ürünleri türleri ve miktarları farklılık gösterdiği görülmektedir.

Bu bağlamda su ürünleri tüketim alışkanlıkları ve tüketici profilleri ile ilgili çalışmalarda illerin tek tek analiz edilerek ülkemiz tüketici alışkanlıklarının tespiti ve su ürünleri tüketimine yönelik bölgesel bazlı stratejilerin belirlenmesi açısından oldukça önemlidir.

Yapılan bu çalışma, Afyonkarahisar ilinde beş farklı türdeki lisede eğitim ve öğretime devam eden öğrencilerin su ürünleri tüketim davranışları üzerine etkili olan faktörlerin tespit edilmesi amacı ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. Yıllara göre kişi başı su ürünleri tüketimi (BSGM, 2019).
Figure 1. Fisheries consumption per capita by years.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, 2017-2018 eğitim öğretim yılı içerisinde Ege Bölgesi'nde yer alan Afyonkarahisar ilinde beş farklı türdeki lisede eğitim gören (Anadolu İmam Hatip Lisesi (A.H.L.), Anadolu Lisesi (A.L.), Fen Lisesi (F.L.), Çok Programlı Anadolu Lisesi (Ç.P.A.L.) ve Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi (M.T.A.L.)) toplam 596 öğrenci üzerinde yüz yüze görüşme şeklinde gerçekleştirilmiştir.

Çalışma, tabakalı örnekleme yöntemine göre, amaca uygun olarak hazırlanmış olan toplam 32 soruyu içermektedir. Anketteki ilk 8 soru öğrencilerin demografik durumlarını içerirken, kalan 24 soru su ürünleri tüketim davranışları, tüketilen türler, tercih sebepleri, tüketim sıklıkları ve pişirme yöntemlerinin belirlenmesine yöneliktir. Soruların bazılarında birden fazla seçenek işaretlenmiştir.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi IBM SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler nominal (kategorik) değişkenler için sayı ve yüzde (%), nümerik değişkenler için ise ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkiler Pearson Ki-Kare ve Fisher's Exact test ile belirlenmiştir.

Verilerin frekans ve yüzde dağılımları hesaplanmış, bulgular şekil ve tablolar haline getirilerek yorumlanmıştır.

BULGULAR

Öğrencilerin Demografik Durumları: Anket çalışmasına katılan 596 öğrencinin % 40,60'ı kız, % 59,40'ı ise erkek olup öğrencilerin yaşları 13-20, boyları 136-190 cm, ağırlıkları da 30-110 kg arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. Ankete katılan öğrencilerin; % 9,90'ını A.H.L., % 36,07'sini A.L., % 9,73'ünü Ç.P.A.L., % 9,06'sını F.L. ve % 35,24'ünü M.T.A.L. de eğitim gören öğrencilerden oluşmaktadır (Tablo 1).

Öğrencilerin ailelerinin aylık ortalama gelir düzeyleri dağılımlarının, 0-1000 TL arası % 7,05, 1001-2000 TL arası % 26,85, 2001-3000 TL arası % 25,50, 3001-4000 TL arası % 19,29, 4001 TL üzeri ise % 21,31

olduğu görülmüştür. Öğrencilerin ailelerindeki fert sayısı 4 olanların % 35,40 ile ilk sırada olduğu, 5 olanların ise % 30,54 ile ikinci sırada olduğu anlaşılmaktadır.

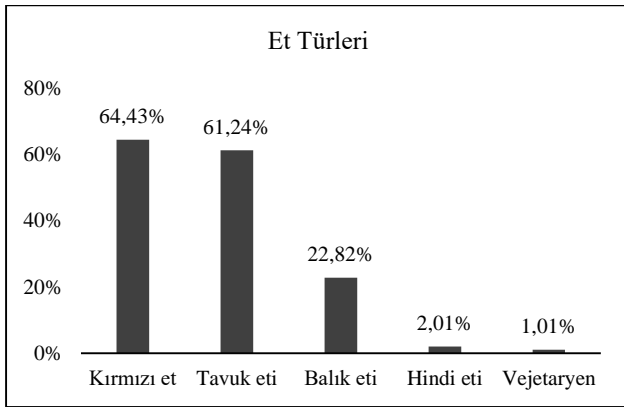
Tablo 1. Öğrencilerin okul türü ve cinsiyete göre dağılımı.

Table 1. Distribution of students by school type and gender.

Okul Türü	Kız Öğrenci		Erkek Öğrenci		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
A.I.H.L.	0	0	59	16,67	59	9,90
A.L.	129	53,31	86	24,29	215	36,07
Ç.P.A.L.	11	4,54	47	13,28	58	9,73
F.L.	35	14,46	19	5,37	54	9,06
M.T.A.L.	67	27,69	143	40,39	210	35,24
Toplam	242	100	354	100	596	100

Öğrencilerin Su Ürünleri Tüketimi ve

Tercihleri: Ankete katılan öğrenciler en fazla tükettikleri et türleri sorusuna verdikleri cevaplara göre tüketimi daha çok tercih edilenler sırasıyla; 1. kırmızı et (% 64,43), 2. tavuk eti (% 61,24), 3. balık eti (% 22,82), 4. hindi eti (% 2,01), 5. ise hiç et tüketmeyen vejetaryen (% 1,01) olarak belirtmişlerdir (Şekil 2).



Şekil 2. Et tüketim oranlarının dağılımı.

Figure 2. Distribution of meat consumption rates.

Çalışmada anketimize katılan 596 öğrencinin % 90,10'u balık tüketmekte, % 9,90'u ise farklı sebeplerden dolayı balık tüketimini tercih etmediği görülmektedir. Balık tüketiminin tercih edilmemesinin başlıca nedenleri arasında ise ilk sırada kokusu, ikinci sırada tat ve aroması, üçüncü sırada ise kılçıklı olması gelmektedir. Balık tüketen öğrencilerin % 34,64'ü haftada bir, % 25,88'i ayda bir ve % 23,84'ü 15 günde bir kere tükettiğini belirtmektedir (Tablo 2).

Tablo 2. Balık tüketim tercihi ve tüketim sıklığının dağılımı.

Table 2. Fish consumption preference and distribution of consumption frequency.

Balık Tüketim Tercihi	n	%	Balık Tüketim Sıklığı		
			n	%	
Evet	537	90,10	Haftada 2-3 kere	40	7,45
			Haftada bir kere	186	34,64
			15 günde bir kere	128	23,84
Hayır	59	9,90	Ayda bir kere	139	25,88
			Yılda birkaç kere	44	8,19
Toplam	596	100	Toplam	537	100

Öğrencilerin en çok tükettiği balık türü hamsi olurken, en az tüketilen somon, hiç tüketilmeyenin ise sardalya balığı olduğu görülmüştür. Balık tüketiminde hamsiden hemen sonra sırasıyla alabalık (% 44,88), palamut (% 43,39), sazan (% 20,86), levrek (% 20,48), çipura (% 11,36) istavrit (% 10,24), lüfer (% 7,82), mezgıt (% 4,28) ve diğer su ürünleri (% 1,12) gelmektedir (Şekil 3).

Öğrencilerin balık tüketimi hakkındaki düşünceleri sorulduğunda % 65,92'si balığın sağlık açısından oldukça önemli olduğunu belirtirken, % 7,45'i ise balık tüketiminin çok gerekli olmadığı düşüncesini taşımaktadır. Balık tüketen öğrencilerin balığı tercih etmelerindeki başlıca nedenler arasında sırasıyla; % 57,73'ü dengeli ve sağlıklı beslenmek için, % 27,56'sı lezzetli olması, % 10,80'ni hepsi, % 3,35'i alışkanlık (örf-gelenek) ve % 0,56'sı ise ekonomik olması olarak bildirmektedir. "Balık etinin sağlıklı ve dengeli beslenmedeki yeri ve öneminin duyurulmasını nasıl istersiniz?" sorusuna öğrenciler sırasıyla; % 27,37'si kamu spotu, % 21,23'ü medya, % 9,68'i seminer/konferans, % 4,47'si ise afiş/poster/broşür, % 37,25'i ise hepsi şeklinde değerlendirmiştir.

Öğrencilerin % 76,91'i balık tüketim tercihlerini genellikle doğal balık üzerinde kullanırken, % 20,48'i ise doğal ve kültür balığı arasında ayırım yapmadığını ve % 2,61'i ise sadece kültür balığını tercih ettiklerini belirtmektedir.

Pişirme yöntemi tercihinde öğrencilerin evlerinde ilk tercih % 86,41 ile en çok kızartma yöntemi, ikinci tercih ise % 31,84 ile ızgara yöntemi olarak bildirmişlerdir. Su ürünlerinin satın alma (tüketim) tercihleri arasında ilk sırayı % 95,65 ile taze balık oluştururken, önemsenmeyecek derecede dondurulmuş ve işlenmiş diğer su ürünleri tercih edilmektedir. Su ürünlerinin temin edilmesinde en sık tercih edilen yerler sırasıyla; % 67,97 ile semt (halk) pazarı, % 24,95 ile balıkçı dükkânı/seyyar satıcı (mahalle balıkçısı), % 16,01 ile süper market (balık reyonu), % 14,55 ile balık hali olduğu belirlenmiştir. Taze balık satın alınırken en çok dikkat edilen kriterler sırasıyla; tazeliği (% 90,50), türü (% 47,30), mevsimi (% 36,87), fiyatı (% 24,39), dış görünüşü (% 19,55), az kılçıklı olması (% 18,99) ve balığın doğal veya kültür balığı olması (% 15,49) olduğu saptanmıştır.

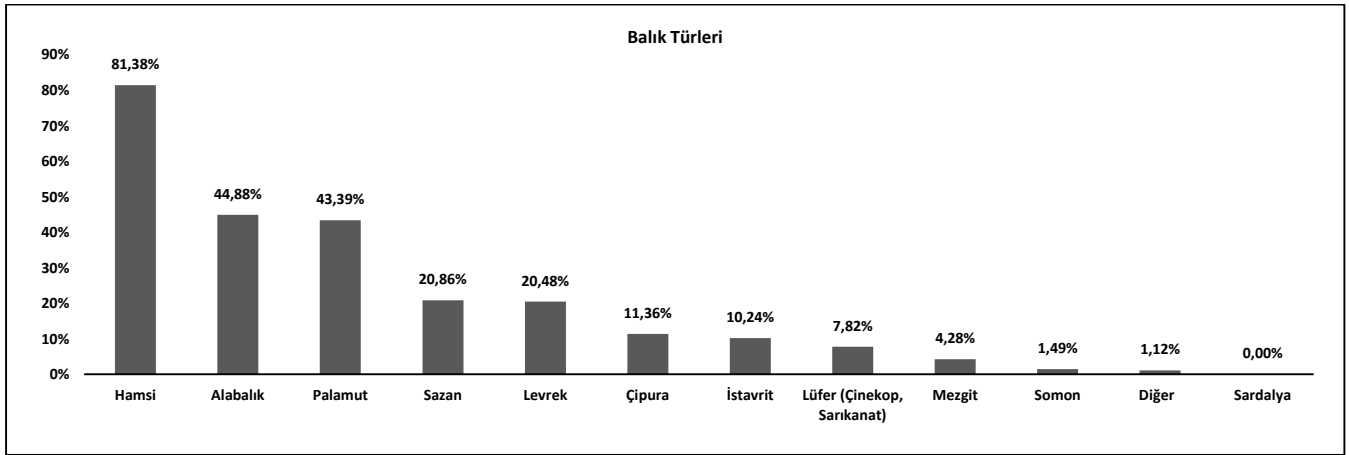
Ailenin aylık ortalama gelir düzeyi ile öğrencilerin balık tüketim sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmamakla ($p>0,05$) birlikte ailelerin gelir durumu arttıkça balık tüketim sıklığının da arttığı, gelir durumu azaldıkça da daha az sıklıkla balık tükettikleri tespit edilmiştir. Öğrencilerin ailelerinin ortalama aylık gelir durumları ile balık tüketim tercihleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$).

Ailenin aylık ortalama geliri ile öğrencilerin balığı lokanta-restoranda tüketmesi arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmaktadır ($p<0,001$). Ailelerin gelir durumu arttıkça genel olarak lokanta-restoranda balık tüketim oranı artışı gözlemlenirken, gelir durumu azaldıkça evde veya piknikte balık tükettiği saptanmıştır. Ailelerin aylık ortalama geliri ile tüketimi tercih edilen; levrek ($p<0,001$), lüfer (çinekop/sarıkanat) ($p=0,003$), istavrit ($p<0,001$), çipura ($p<0,001$), mezgit ($p<0,008$) ve somon ($p<0,001$) balıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardır. Aylık geliri yüksek olan ailelerde levrek, lüfer, çipura ve somon gibi fiyatı yüksek olan balıkların tüketim oranı daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Ankete katılan öğrencilerin ailelerinde yaşayan birey sayısı ile balık tüketim tercihleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0,045$).

Ailedeki fert sayısı 6 olanların en yüksek (% 94) oranda, ailede yaşayan birey sayısı 7 veya daha fazla olanların ise en az (% 78,40) oranda balık tüketimini tercih ettiği tespit edilmiştir. Çalışmamıza katılan öğrencilerin cinsiyeti ile balık tüketim tercihleri arasındaki ilişki incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Öğrencilerin annelerinin çalışan veya ev hanımı olma durumu ile balık tüketim sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Ancak genel olarak annesi ev hanımı olan ailelerdeki öğrencilerin, annesi çalışan ailelerdeki öğrencilerden çok daha sık balık tükettikleri tespit edilmiştir.



Şekil 3. Balık türlerinin tüketilme oranlarının dağılımı.

Figure 3. Distribution of consumption rates of fish species.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Afyonkarahisar ilinde eğitim gören lise öğrencilerinin su ürünleri tüketim sebebinin en yüksek oranda % 57,73'ü dengeli ve sağlıklı beslenmek için olduğu belirlenirken, ülkemizde yapılan benzer çalışmalarda bu oran, Çanakkale'de % 33,80 Çolakoğlu vd., (2006), Tokat'ta % 87 Erdal ve Esengül, (2008), Burdur'da % 39,80 Orhan ve Yüksel, (2010), Elazığ'da % 45,67 Çiçek vd., (2014), Trabzon'da % 62,30 Balçık Mısırdı vd., (2015), Diyarbakır'da % 55,20 Aydın ve Odabaşı, (2017), Ardahan'da % 45,67 Kılıç vd., (2019) ve Ankara'da % 39,90 Yüksel ve Diler, (2019) olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre gerek Afyonkarahisar ilinde eğitim gören lise öğrencileri olsun gerekse ülkemiz genelinde su ürünlerinin sağlık ve dengeli beslenmek açısından önemli olduğu bilincinin tüketicilerde yer edindiği görülmektedir.

Ankete katılan öğrencilerin balık eti tüketiminde ilk tercih olarak % 96,65 oranı ile "taze balığı" tercih ederken, bu oran Ordu'da % 73,20 Aydın ve Karadurmuş,

(2012), Giresun ve Trabzon'da % 95,14 Aydın ve Karadurmuş, (2013), Keban Baraj Gölü Ova Bölgesi'nde % 97,84 Çandır ve Duman, (2013), Ankara'da % 81,70 Yüksel ve Diler, (2019), Ardahan'da % 67,09 Kılıç vd., (2019), Van'da % 87,20 Terin vd., (2016), Elazığ'da % 92,94 Çiçek vd., (2014), Konya'da % 65,80 Şen, (2011), Fatsa'da % 97,20 ve Aybastı'da % 98,20 Balık vd., (2013), Diyarbakır'da % 84,54 Aydın ve Odabaşı, (2017) ve Yozgat'ta % 97,70 Erdoğan Sağlam ve Samsun, (2018) olarak tespit edilmiştir. Afyonkarahisar'da yapılan çalışmanın sonucu ile diğer illerdeki araştırmaların sonuçları arasında benzerlik görülmekte olup tüm araştırma sonuçlarına göre ülkemiz halkının balığı taze olarak tüketmeyi tercih ettiği net olarak görülmektedir.

Balığın evde ne şekilde pişirildiği sorusuna öğrenciler ilk sırada % 86,41 ile yağda kızartma, ikinci sırada ise % 31,84 ile ızgara yöntemi olarak bildirilmiştir. Yine ülkemizde benzer yapılan çalışmalarda bu durum Diyarbakır'da % 44,30 Aydın ve Odabaşı, (2017), Giresun ve Trabzon'da % 52,97 Aydın ve Karadurmuş, (2013), Erzurum'da % 40 Oğuzhan vd., (2009), Van'da % 46,50

Sarı vd., (2000), Keban Baraj Gölü Ova Bölgesi'nde % 66,19 Çandır ve Duman, (2013), Tekirdağ' da % 33,23 Abdikoğlu, (2015), Van'da % 40,20 Terin vd., (2016) ve Manisa' da % 47 Dereli vd., (2016) ile ilk tercih olarak tavada yağda kızartma tekniğinin tercih edildiği belirlenmiştir. Sağlıklı beslenmede kızartma tekniğini çok doğru bir yöntem olmadığı bilinmektedir. Balık gibi sağlık açısından önemli bir besinin haşlama, fırında pişirme, buğulama, ızgara gibi daha sağlıklı yöntemlerle pişirilmesi önem arz etmektedir. Bu bağlamda balığın türüne göre farklı pişirme tekniklerinin tercih edilmesi ve balık yemeklerinin yaygınlaştırılması ile daha sağlıklı tüketim biçimleri için halkın bilinçlendirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Ankete katılan lise öğrencilerinin et tüketimi tercihinde sırasıyla, ilk sırada % 64,43 ile kırmızı eti, ikinci sırada % 61,24 ile tavuk etini, üçüncü sırada ise % 22,82 ile balık etini tercih ettiklerini bildirmiştir. Yapılan benzer çalışmalarda ise bu oran Erzurum'da 1. kırmızı et (% 56), 2. tavuk (% 37,33), 3. balık (% 6,67) Oğuzhan vd., (2009), Gökçeada'da 1. kümes hayvanları (% 37,30), 2. balık (% 33), 3. kırmızı et (% 25,40) Doğan ve Gönülal, (2014), Adıyaman'da 1. tavuk eti (% 56), 2. kırmızı et (% 36), 3. balık (% 5) Olgunoğlu vd., (2014), Elazığ'da 1. kırmızı et (% 40,86), 2. beyaz et (% 22,57), 3. hepsi (% 32), 4. balık eti (% 3,14) Çiçek vd., (2014), Antalya'da 1. tavuk eti (% 46,96), 2. kırmızı et (% 36,12), 3. balık eti (% 16,92) Arslan ve İzci, (2016), Ankara'da 1. kırmızı et (% 53,30), 2. tavuk eti (% 29,30), 3. balık eti (% 17,70) Gül Yavuz vd., (2015), Hakkari'de 1. tavuk eti (% 61,10), 2. kırmızı et (% 35,50), 3. balık eti (% 3,40) Uzundumlu vd., (2016), Manisa'da 1. tavuk eti (% 54), 2. dana eti (% 24), 3. kuzu eti (% 12), 4. balık eti (% 7) Dereli vd., (2016), Diyarbakır'da 1. kanatlı eti (% 38), 2. kırmızı et (% 34), 3. balık (% 28) Aydın ve Odabaşı, (2017), Trabzon ve Giresun illerinde ise 1. su ürünleri (% 41), 2. tavuk eti (% 33), 3. kırmızı et (% 26) Aydın ve Karadurmuş, (2013), Siirt'te 1. kırmızı et (% 40,60), 2. tavuk eti (% 31,40), 3. balık (% 22,50), 4. hiçbirisi (% 5,50), Kırıcı vd., (2018), Keban Baraj Gölü Ova Bölgesi'nde 1. balık (% 61,15), 2. kırmızı et (% 7,19), 3. tavuk eti (% 2,88), 4. hepsi (% 28,78) Çandır ve Duman, (2013), Tunceli'de % 48 ile balık eti Yüksel vd., (2011) ve Rize'de 1. balık eti (% 61,63), 2. sığır eti (% 20,93), 3. tavuk eti (% 9,30), 4. koyun eti (% 8,14) Çağlak vd. (2018) en fazla tüketilen et türleri olarak belirlenmiştir. Çalışmamız ve diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre balık eti ilk tercih olarak sadece Trabzon, Giresun, Rize, Keban Baraj Gölü Ova Bölgesi ve Tunceli'de tercih edilmekte olup halkımızın genellikle kasaplık büyük baş hayvan ve tavuk etini daha fazla tercih ettiği balık etini ise sağlık ve beslenme açısından önemini bilmesine rağmen son sıralarda tercih ettiği görülmektedir. Ülkemizin geleneksel yemek kültürüne bakıldığında da

büyükbaş ve küçükbaş hayvan eti ile beslenmenin daha yoğun olduğu görülmektedir.

Öğrencilerin en çok tükettikleri balık türleri sorusuna birinci tercih % 81,38 ile hamsi, ikinci tercih % 44,88 ile alabalık olurken en az tüketilen % 1,49 ile somon ve hiç tüketilmeyen ise sardalya olarak tespit edilmiştir. Benzer çalışmalarda; Erdal ve Esengün, (2008) Tokat'ta % 65, Oğuzhan vd. (2009) Erzurum'da % 48, Orhan ve Yüksel, (2010) Burdur'da % 77,30, Yüksel vd., (2011) Tunceli'de % 33,20, Aydın ve Karadurmuş, (2012) Ordu'da % 86,21, Aydın ve Karadurmuş, (2013) Giresun ve Trabzon illerinde % 17,75 ve Erdoğan Sağlam ve Samsun, (2018) Yozgat'ta % 94 ile hamsi olarak bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda deniz balıklarından hamsi, tatlı su balıklarından ise alabalık ve sazan en fazla tercih edilen balık türleri arasında yer almaktadır.

Ankete katılan öğrencilerin su ürünleri tüketim sıklığı sorusuna, en yüksek oranda % 34,64'ü haftada bir kere ve en az oranda ise % 7,45'i haftada 2-3 kere tükettiği belirlenmiştir. Öğrencilerin vermiş olduğu bilgilerin değerlendirilmesi sonucunda ortalama kişi başı yıllık balık tüketim miktarı 7,35 kg olarak hesaplanmıştır. Ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda da kişi başı yıllık ortalama balık tüketim miktarının, Çanakale'de 18 kg Çolakoğlu vd., (2006), Tokat'ta 13 kg Erdal ve Esengün, (2008), Tokat-Almus'ta 14,71 kg Adıgüzel vd., (2009), Tunceli'de 4,10 kg Yüksel vd., (2011), Ordu'da 26,30 kg Aydın ve Karadurmuş, (2012), Amasya'da 5,06 kg Kızılaslan ve Nalinci, (2013), Trabzon ve Giresun'da 29,52 kg Aydın ve Karadurmuş, (2013), Adıyaman'da 3,01 kg Olgunoğlu vd., (2014), Elazığ'da 3,30 kg Çiçek vd., (2014), Trabzon'da 23 kg Balçık Mısır vd., (2015), Manisa'da 7,70 kg Dereli vd., (2016), Diyarbakır'da 12,20 kg Aydın ve Odabaşı, (2017), Niğde'de 3,80 kg Bashimov, (2017) ve Ardahan'da 39 kg Kılıç vd., (2019) olarak tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre denize kıyısı olan iller ile su ürünleri üretiminin yapıldığı iç bölgelerdeki illerde balık tüketiminin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Afyonkarahisar ilinde balık tüketim miktarının ülke ortalamasının üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Afyonkarahisar ilinde lise öğrencilerinin balık tüketim davranışlarını belirlemek üzere yapılan bu çalışmada elde edilen verilere göre yıllık tüketim ortalaması, Avrupa, Asya ve Dünya ortalamasının oldukça altında olması ile birlikte Türkiye ortalamasının üzerindedir. Afyonkarahisar'da balık tüketimi ülkemizin birçok ilinden fazla olmasına rağmen denize kıyısı olan illerden ve özellikle balıkçılığın yoğun olarak yapıldığı Doğu Karadeniz Bölgesinin oldukça altında olduğu görülmektedir.

Afyonkarahisar ilinde ülkemizdeki diğer çalışmalarda olduğu gibi en çok tüketilen deniz balığının hamsi, tatlı su balığının ise alabalık olduğu saptanmıştır.

Ülkemiz su ürünleri istihsalinin büyük bir kısmını hamsi avcılığının oluşturması, avcılığı yapılan diğer türlere göre daha ucuz, lezzetli ve az kılçıklı olması hamsinin en çok tüketilen su ürünü olmasının başlıca nedeni olarak düşünülmektedir. Ülkemizde yapılan bilimsel çalışmalara göre özellikle tatlı sulardaki çiftliklerde üretilen alabalığın halkımız tarafından çok sevildiği ve en çok tüketilen tatlı su balığı olarak tercih edildiği görülmektedir. Önemli bir protein ve omega-3 kaynağı olan alabalığın fiyatının diğer balıklara göre pahalı olmaması ve lezzetli bir balık olmasından dolayı tüketiciler tarafından talep görmesine neden olmaktadır. Bu durum insanlarımızın kültür balıkçılığına bakışımın pozitif olduğunu özellikle çipura, levrek gibi diğer kültür deniz balıklarını da tezgâhlarda görmeleri durumunda tercih edeceklerini göstermektedir.

Balık daha çok evde tüketilirken, geliri yüksek ailelerde kısmen de olsa restoranlarda tüketilmektedir. Bu bağlamda evlere servis yapan balık pişirme lokantalarının sayısının artması ile özellikle kokusundan dolayı evde balık pişirmeyen ailelerin balık tüketimine yöneleceği tahmin edilmektedir. Öğrencilerin aileleri su ürünlerinin tamamına yakını semt pazarlarından ve mahalle balıkçısından (balıkçı dükkanı/seyyar satıcı) tedarik etmektedir. Bu durumda su ürünleri satışı yapan balıkçı dükkanlarının balıkları hem temizleme hem de pişirip satış yapması balık tüketimine olan talebi artıracığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra Afyonkarahisar gibi denize uzak olan illerde etkin bir pazarlama sistemi ve standardize edilmiş balık satış yerleri ve balık pişirme mekânlarının çoğaltılması su ürünleri tüketimini artıracığı öngörülmektedir. Geleneksel beslenme alışkanlıkları ve damak tadı su ürünleri tüketimini kısıtlaya da zengin bir protein, vitamin ve mineral kaynağı olan su ürünleri tüketiminin öğrencilerin, ebeveynlerin ve toplumun her seviyesindeki bireylerin bilinçlendirilmesiyle zamanla artacağı öngörülmektedir. Öğrencilere balık tüketimi ve sağlıklı beslenmenin önemini anlatmak amacıyla; sosyal medya, internet, televizyon ve kamu spotu gibi popüler iletişim araçları aktif olarak kullanılmalıdır.

Sonuç olarak Afyonkarahisar ilinde balık tüketiminin artırılması için özellikle ilk ve orta öğretim düzeyindeki okullarda öğrencilere balık etinin sağlık açısından önemi üzerine dersler, bilgilendirme seminerleri, kampanyalar ve ilgili kamu kurumlarının farkındalık çalışmaları önem etmektedir. Su ürünleri tüketiminin insan sağlığı açısından önemini okul eğitim ve öğretimi içerisinde öğrencilere verilmesi önemsenmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Hasan YİĞİT'in "Ege Bölgesi'nde Eğitim Gören Lise Öğrencilerinin Balık Tüketim Alışkanlıklarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma" adlı

Doktora Tezinden üretilmiştir. Anketleri cevaplayan öğrencilere, destek olan okul müdürü ve öğretmenlere teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

- Abdikoğlu, D.İ. (2015).** *Tekirdağ ilinde balık tüketim eğilimlerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ, Türkiye, 90s.
- Adıgüzel, F., Civelek, O., Sayılı, M. & Büyükbay, E. O. (2009).** Tokat ili Almus ilçesinde ailelerin balık tüketim durumu. *GOÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(2), 35-43.
- Arslan, M. & İzci, L. (2016).** Antalya ili su ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(1), 75-85.
- Aydın, M. & Karadurmuş, U. (2012).** Consumer behaviors for seafood in Ordu province. *Yunus Araştırma Bülteni*, (3), 18-23.
- Aydın, M. & Karadurmuş, U. (2013).** Trabzon ve Giresun bölgelerindeki su ürünleri tüketim alışkanlıkları. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 3(9), 57-71.
- Aydın, M. & Odabaşı, Y. (2017).** Su ürünleri tüketim alışkanlıkları üzerine bir araştırma: Diyarbakır ili örneği. *Türk Denizcilik ve Deniz Bilimleri Dergisi*, 3(1), 101-112.
- Balçık Mısır, G., Kuflu, S. & Ayyıldız, H. (2015).** Fish consumption preferences of consumers in Trabzon, *Yunus Araştırma Bülteni*, (2), 45-87.
- Balık, İ., Yardımcı, C. & Turhan, O. (2013).** Ordu ili Fatsa ve Aybastı ilçelerinde balık tüketim alışkanlıklarının karşılaştırmalı olarak incelenmesi. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 3(2), 18-28.
- Bashimov, G. (2017).** Niğde ilinde balık eti tüketim alışkanlığının belirlenmesi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 4(2), 196-204.
- BSGM. (2019).** Su Ürünleri İstatistikleri, <https://www.tarimorman.gov.tr/BSGM/Menu/32/Bilgi-Dokumanlari> (10 Şubat 2020).
- Çağlak, E., Karşlı, B., Gürdal, A.A. & Kara, B. (2018).** Rize ilindeki su ürünleri perakende satış yerlerinde çalışanların sosyo-ekonomik durumu. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 1, 34-41
- Çandır, F., & Duman, M. (2013).** Keban baraj gölü ova bölgesi halkının balık tüketim alışkanlıklarının araştırılması. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 25(1), 61-70.
- Çiçek, E., Akgün, H. & İlhan, S. (2014).** Elazığ ili balık eti tüketim alışkanlığı ve tercihinin belirlenmesi. *Yunus Araştırma Bülteni*, (1), 3-11.

- Çolakoğlu, F.A., İşmen, A., Özen, Ö., Çakır, F., Yiğın, Ç. & Ormancı, H.B. (2006).** The evaluation of fish consumption in Çanakkale. *Ege Üniversitesi Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23(3), 387-392.
- Dereli, H., Çelik, R., Saygı, H. & Tekinay, A.A. (2016).** Manisa ili su ürünleri tüketim ve tercihleri üzerine bir araştırma. *Yunus Araştırma Bülteni*, (2), 115-128.
- Doğan, K. & Gönülal, O. (2014).** Gökçeada balık tüketim alışkanlığının belirlenmesi ve sosyo-ekonomik analizi. *İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 29(1), 101-116.
- Erdal, G. & Esengün, K. (2008).** Tokat ilinde balık tüketimini etkileyen faktörlerin logit model ile analizi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 25(3), 203-209.
- Erdoğan Sağlam, N. & Samsun, S. (2018).** Yozgat ili su ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 14(1), 9-16.
- FAO. (2017).** Fishery and Aquaculture Statistics, Yearbook, Rome, Italy, 108p.
- FAO. (2018).** The State of World Fisheries and Aquaculture, Rome, Italy, 227p.
- Gül Yavuz, G., Yasan Ataseven, Z., Gül, U. & Gülaç, Z.N. (2015).** Su ürünleri tüketiminde tüketici tercihlerini etkileyen faktörler: Ankara ili örneği. *Yunus Araştırma Bülteni*, (1), 73-82.
- Kılıç, E., Soylu, M. & Uzmanoğlu, M.S. (2019).** Ardahan ili su ürünleri tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(7), 1028-1039.
- Kırıcı, M., Çam, O. & Karakaya, E. (2018).** Siirt ili kent merkezinde balık eti tüketim yapısı ve tüketicilerin satın alma eğilimlerinin belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 7(2), 227-236.
- Kızılaslan, H. & Nalinci, S. (2013).** Amasya ili merkez ilçedeki hane halkının balık eti tüketim alışkanlıkları ve balık eti tüketimini etkileyen faktörler. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, (5), 61-75.
- Oğuzhan, P., Angış, S. & Atamanalp, M. (2009).** Erzurum ilindeki tüketicilerin su ürünleri tüketim alışkanlığının belirlenmesi üzerine bir araştırma. *XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu*, 01-04 Temmuz 2009, Rize, Türkiye.
- OKA (Orta Karadeniz Kalkınma Ajansı). (2013).** *Su Ürünleri & Balıkçılık Sektör Raporu*, Samsun, Türkiye, 55s.
- Olgunoğlu, İ.A., Bayhan, Y.K., Olgunoğlu, M.P., Artar, E. & Ukav, İ. (2014).** Adıyaman ilinde balık eti tüketim alışkanlıklarının belirlenmesi. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 9(1), 21-25.
- Orhan, H. & Yüksel, O. (2010).** Burdur ili su ürünleri tüketimi anket uygulaması. *SDÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(1), 1-7.
- Sarı, M., Demirulus, H. & Söğüt, B. (2000).** Van ilinde öğrencilerin balık eti tüketim alışkanlığının belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Doğu Anadolu Bölgesi IV. Su Ürünleri Sempozyumu*, 28-30 Haziran 2000, Erzurum, Türkiye, 627-637.
- Şen, A. (2011).** *Konya ve Mersin il merkezlerinde yaşayan bireylerin balık tüketimi konusundaki alışkanlık ve bilgi düzeylerinin karşılaştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Konya, Türkiye, 93s.
- Terin, M., Hamamcı, G., Gül, T. & Terin, S. (2016).** Van ili kentsel alanda hanelerin balık tüketim yapısı ve satın alma davranışlarının belirlenmesi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 33(3), 241-249.
- TÜİK. (2019).** <http://tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=30697> (10 Şubat 2020).
- Uzundumlu, A.S., Sezgin, A. & Tekin, M.H. (2016).** Balık eti tüketim eğilimini etkileyen faktörlerin analizi: Hakkari ili örneği. *Alınları Zirai Bilimler Dergisi*, 31(2), 9-17
- Yüksel, E., & Diler, A. (2019).** Ankara ilinde su ürünleri tüketim tercihlerinin belirlenmesi. *Aydın Gastronomy*, 3(1), 11-21.
- Yüksel, F., Karaton Kuzgun, N. & Özer, E.İ. (2011).** Tunceli ili balık tüketim alışkanlığının belirlenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 2(5), 28-36



Determination of Reference Values of Some Hematological and Immunological Parameters in Healthy Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*)

Selçuk DUMAN*

Department of Aquaculture, Imamoglu Vocational School, Cukurova University, Adana/TURKEY

Geliş/Received: 03.04.2020

Kabul/Accepted: 05.06.2020

How to cite: **Duman. S. (2020)**, Determination of Reference Values of Some Hematological and Immunological Parameters in Healthy Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 212-217.
Atf yapmak için: **Duman. S. (2020)**, Sağlıklı Rus Mersin Balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) Bazı Hematolojik ve İmmünolojik Parametrelerin Referans Değerlerinin Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 212-217.

 <https://orcid.org/0000-0002-6771-3385>

***Corresponding author's:**

Selçuk DUMAN
Department of Aquaculture, Imamoglu
Vocational School, Cukurova University,
Adana/TURKEY
✉: sduman@cu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (507) 406 21 58
Fax : +90 (322) 338 65 39

Abstract: This study aims to determine the reference intervals of some hematological and immunological parameters in healthy Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833) blood. These parameters are important indicators of fish physiological status and fish health. In the study, reference ranges of erythrocyte, leukocyte, lymphocyte, monocyte, eosinophil, neutrophil, basophil, and hematocrit values were determined for hematological parameters. In terms of immunological parameters, the reference intervals of TNF- α (tumor necrosis factor-alpha), IFN- γ (interferon-gamma), IL-1 β (interleukin 1 beta), IL-6 (interleukin 6) and IL-8 (interleukin 8) values were determined. The reference ranges we have detected; erythrocyte $0.77-1.23 \times 10^6/\text{mm}^3$, leukocyte $9.21-16.96 \times 10^3/\text{mm}^3$, lymphocyte 43.35-59.78%, monocyte 4.61-11.39%, eosinophil 3.27-6.52%, neutrophil 12.16-18.41%, hematocrit 22.14-28.63%, TNF- α 27.59-49.83 pg/ml, IFN- γ 66.25-79.34 pg/ml, IL-1 β 1.08-1.76 pg/ml, IL-6 11.2-19.7 pg/ml and IL-8 31.4-52.7 pg/ml. It is thought that the hematological and immunological reference intervals detected in the Russian sturgeons which will contribute significantly to the determination of the health and physiological situation of these fish.

Keywords: *Acipenser gueldenstaedtii*, hematology, immunology, sturgeon.

Sağlıklı Rus Mersin Balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) Bazı Hematolojik ve İmmünolojik Parametrelerin Referans Değerlerinin Belirlenmesi

***Sorumlu yazar:**

Selçuk DUMAN
İmamoğlu Meslek Yüksekokulu, Su Ürünleri
Bölümü, Çukurova Üniversitesi, Adana /
TÜRKİYE
✉: sduman@cu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (507) 406 21 58
Fax : +90 (322) 338 65 39

Öz: Bu çalışmanın amacı, sağlıklı Rus mersin balığı (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833) kanında bazı hematolojik ve immünolojik parametrelerin referans aralıklarını belirlemektir. Bu parametreler balığın fizyolojik durumu ve balık sağlığının önemli göstergeleridir. Çalışmada, hematolojik parametreler için eritrosit, lökosit, lenfosit, monosit, eozinofil, nötrofil, bazofil ve hematokrit değerleri referans aralıkları belirlenmiştir. İmmünolojik parametreler açısından ise, TNF- α (tümör nekroz faktör alfa), IFN- γ (interferon gama), IL-1 β (interlökin 1 beta), IL-6 (interlökin 6) ve IL-8 (interlökin 8) referans aralıkları belirlenmiştir. Belirlediğimiz referans aralıkları; eritrosit $0,77-1,23 \times 10^6/\text{mm}^3$, lökosit % $9,21-16,96 \times 10^3/\text{mm}^3$, lenfosit % 43,35-59,78, monosit % 4,61-11,39, eozinofil % 3,27-6,52, nötrofil % 12,16-18,41, hematocrit % 22,14-28,63, TNF- α 27,59-49,83 pg/ml, IFN- γ 66,25-79,34 pg/ml, IL-1 β 1,08-1,76 pg/ml, IL-6 11,2-19,7 pg/ml ve IL-8 31,4-52,7 pg/ml. Rus mersin balıklarında tespit edilen hematolojik ve immünolojik referans aralıklarının, bu balıkların sağlık ve fizyolojik durumlarının belirlenmesine önemli katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Acipenser gueldenstaedtii*, hematoloji, immünoloji, mersin balığı.

INTRODUCTION

Sturgeon, whose evolutionary past goes back 100 million years ago, is the anadrome and potamodromous species located in the northern hemisphere region (Bahmani, 1998; Tavakoli et al., 2019). Wild sturgeon populations have decreased significantly due to factors such as urbanization, dams preventing migration routes, overfishing and water pollution. The Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*, also known as diamond or Danube sturgeon) has recently been among the important species in sturgeon aquaculture applications (Duman, 2019a). Sturgeon is famous for its caviar obtained from the mature but unfertilized eggs of the female fish from a biological point of view, and it is also a valuable fish in terms of meat as they are large-bodied. Therefore, sturgeon culture is increasing rapidly in the world and Turkey (Duman, 2019b). Research for sturgeon has generally focused on protection biology, ecology, and reproduction areas, while less effort has been spent on sturgeon physiology (Baker et al., 2005). Blood is an accessible component in the body fluid system and is examined to assess the physiological state of the creature (Houston & Carlile, 1997). Hematological studies are accepted as one of the important biological features in aquaculture (Bahmani, 1999). Hematological parameters have a significant act in detecting the physiological response of fish to environmental conditions, also these parameters are between the most important indicators of pesticides, metals and toxic compounds for living creatures in aquatic environments (Van Vuren, 1986; Nussey et al., 1995). Cytokines are infection inhibitors that play an act in natural immunity and the development of hematopoietic cells, they also stimulate the immune function of cells (Duman & Şahan, 2018). In sturgeon breeding, it is important to examine the quantitative properties in the blood as it provides a reliable index of physiological conditions, especially in the development of fish (Alyakrinskaya & Dolgova, 1984). In the monitoring of the impact of physiological or sublethal stress caused by exogenous or endogenous changes in fish, changes of some blood parameters are used often (Cataldi et al., 1998). In sturgeon breeding, it is becoming increasingly important to evolve new methods to exactly determine the health of the fish during the production cycles and to diagnose diseases early. Changes in hematological and immunological values are frequently indicative of changes in physiological status and are used routinely to determine the health of domestic and wild animals, but it cannot be used due to the lack of reference ranges in many fish species, with the inclusion of sturgeon (Knowles et al., 2006).

This study aim is to determine the reference ranges of some hematological and immunological parameters such as erythrocyte, leukocyte, lymphocyte,

monocyte, eosinophil, neutrophil, hematocrit, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8 in healthy Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii* Brandt & Ratzeburg, 1833).

MATERIAL AND METHOD

The research was carried out in a commercial fish farm that breeding Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) in the city of Adana in Turkey. In this study, the principles of the local ethics committee were complied with. The fish with an average weight of 3670 ± 295.2 g and a mean length of 82.4 ± 9.3 cm were stocked in three concrete ponds (30 fish/pond, stocking density 13.7 ± 0.52 kg/m², n = 90). Supplied water flow rate for concrete ponds was 14 L min⁻¹ and ponds dimension was $2 \times 4 \times 1$ m. The fish were subjected to macroscopic (external examination by the eye) and microscopic (parasitological and bacteriological examination) health screening before being taken into ponds. Also, during the experiment, water temperature, oxygen, and pH values were measured every morning and evening by using a YSI 6600 CTD multi-parameter. In the trial, sturgeon feed (no: 4.5) was used and fish were fed at 0.75% of live body weight four times a day (Chebanov & Galich, 2011). After the two-week adaptation period, the fish were analyzed. The fish were anesthetized with 20 mL/L quinaldin sulfate (Şahan et al., 2017) and 2 ml blood was drawn from the caudal vein of each fish using a heparinized syringe for hematological analyzes (Blaxhall & Daisley, 1973; Trenzado et al., 2003).

Erythrocyte and leucocyte cells were counted using Natt-Herrick solution and Thoma hemocytometer (Kocabatmaz & Ekingen, 1984). Cyan-methemoglobin and micro-hematocrit methods were used for Hemoglobin and hematocrit values (Kocabatmaz & Ekingen, 1984; Stolen et al., 1994). Peripheral blood smears were stained with a mixture of May-Grünwald and Giemsa subsequently, the percentage of lymphocyte, monocyte, neutrophil, and eosinophil cell types were identified using a microscope (Blaxhall, 1972; Fujimaki & Isoda, 1990). Catalog no. MBS702530 fish ELISA Kit for IFN- γ , catalog no. MBS024441 fish ELISA Kit for TNF- α , catalog no. MBS700230 fish ELISA Kit for IL-1 β , catalog no. MBS702353 fish ELISA Kit for IL-6 and catalog no. MBS700055 fish ELISA Kit for IL-8 were used in the cytokine analyses. In these analyses, the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits were used which suitable for fish and the results of TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, and IL-8 cytokine levels were evaluated based on the principles of the double-antibody sandwich method (Voller et al., 1978). In the statistical analysis of the results, the non-parametric estimation method with the SPSS

statistical package program was used for the reference interval determination (Düzgüneş et al., 1983).

RESULTS AND DISCUSSION

In this study with healthy Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*), some hematological (such as erythrocyte, leukocyte, lymphocyte, monocyte, eosinophil, neutrophil, hematocrit), and immunological (such as IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) parameter levels were determined. Furthermore, basic data on this subject was created. In terms of hematological parameters, the mean erythrocyte, leukocyte, lymphocyte, monocyte, eosinophil, neutrophil, and hematocrit values were determined as $1.07 \times 10^6/\text{mm}^3$, $12.09 \times 10^3/\text{mm}^3$, 52.35%, 9.17%, 4.21%, 16.31%, and 26.48%, respectively. Also, in terms of immunological parameters, the mean IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6, and IL-8 values were determined as 70.95 pg/ml, 40.26 pg/ml, 1.57 pg/ml, 16.46 pg/ml and 44.58 pg/ml, respectively. Reference ranges of hematological analyzes are given in Table-1, also reference ranges of immunological analyzes are given in Table-2. The lowest and highest values of the measured water parameters (O_2 , pH and temperature) are given in Table 3.

Table 1. Reference intervals of hematological parameters in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*).

Hematological parameters	Reference intervals
Erythrocyte ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	0.77 – 1.23
Leukocyte ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	9.21 – 16.96
Hematocrit (%)	22.14 – 28.63
Lymphocyte (%)	43.35 – 59.78
Monocyte (%)	4.61 – 11.39
Eosinophil (%)	3.27 – 6.52
Neutrophil (%)	12.16 – 18.41

Table 2. Reference intervals of immunological parameters in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*).

Immunological parameters	Reference intervals
TNF- α (pg/ml)	27.59 – 49.83
IFN- γ (pg/ml)	66.25 – 79.34
IL-1 β (pg/ml)	1.08 – 1.76
IL-6 (pg/ml)	11.2 – 19.7
IL-8 (pg/ml)	31.4 – 52.7

Table 3. In the measured water parameters, lowest and highest values of O_2 , pH and water temperature.

O_2 (mg/L)	pH	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)
6.5 – 7.8	8.1 – 8.6	17.3 – 19.5

Sturgeon has a complex life cycle and can tolerate various environmental conditions with its strong morphological structure. However, almost all sturgeon species in the world are threatened and their generations have been extincting in today. Hematological and immunological parameters are an effective way to examine physiological and pathological changes in fish. Bahmani et al. (2001) investigated the hematological indices of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) and beluga (*Huso huso*) species in different growth stages (1, 2 and 6 years old).

They found that erythrocyte count is in the range of $495 \times 10^3 - 735 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$, leukocyte count is in the range of $31.6 \times 10^3 - 57.7 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$, the lymphocyte is in the range of 54.5 - 67.5%, neutrophil in the range of 22.63 - 33.86%, eosinophil in the range of 6.60 - 13.7% and monocyte in the range of 0.6 - 2.25% for the beluga species. They also found these values for Persian sturgeon as $240 \times 10^3 - 452.5 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$, $13.43 \times 10^3 - 46.48 \times 10^3 \text{ cells ml}^{-1}$, 73.25 - 82.70%, 12.3 - 20%, 2.25 - 6.5% and 0.2 - 2.5%, respectively. The erythrocyte, lymphocyte and eosinophil values for beluga were found approximately similar, leukocyte high, monocyte low to the values we detected in our study. For Persian sturgeon, leukocyte, neutrophil and eosinophil values were similar to our findings in our study. Besides, erythrocyte and monocyte values were low, and lymphocyte levels were higher than our study. In a study on hematological reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*), was determined PCV as 26 - 46%, RBC count as $0.65 - 1.09 \times 10^6/\mu\text{L}$, WBC count as 28376 - 90789/ μL , large lymphocytes as 2122 - 10435/ μL , neutrophils as 3758 - 33592/ μL , monocytes as 0 - 7137/ μL and eosinophils as 0 - 1544/ μL (the fish ranged from 3- to 5-years old and sexually immature) (Knowles et al., 2006). They reported that these reference intervals values will be beneficial for the early detection, diagnose and monitoring of disease in cultured shortnose sturgeon. Köksal et al. (1999) performed hematological examinations on Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*), they found hematocrit value as 25.28 - 36.54%, erythrocyte count as 1.14 - $1.60 \times 10^6/\mu\text{L}$, leukocyte count as 19 - $23 \times 10^3/\mu\text{L}$, lymphocyte ratio as 93 - 95% and monocyte ratio as 1 - 2%. Additionally, Ghiasi et al. (2014) examined the hematological values to sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*), In the control group it was noticed that RBC count as $1.32 \pm 0.05 \times 10^5$, WBC count as $62.3 \pm 7.5 \times 10^3$, Hct level as $27.0 \pm 1.3\%$, lymphocytes as $91.7 \pm 1.4\%$, neutrophils as $6.8 \pm 1.2\%$, eosinophils as $0.8 \pm 0.3\%$ and monocytes as 0.3 ± 0.1 . Also, Bucur et al. (2009) evaluated hematological parameters of North American sturgeon (*Polyodon spathula*) in weighing between $200.4 \pm 40.28 - 1193.7 \pm 57.56 \text{ g}$ cultured in ponds. They detected the hematocrit (Hct) value between 24.5 - 41.6% and the red blood cell count (RBC) between $1.046 - 2.252 \times 10^6/\mu\text{L}$. In another research, Docan et al. (2017) examined the hematological changes of healthy Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) and they determined RBC count as $0.45 \pm 0.1 \times 10^6/\text{mm}^3$, also Hct value as $14.82 \pm 2.73\%$. In a different study, hematological parameters of *Huso huso* (5-month-old) in the environment where the environmental salinity was 0 ppt were investigated. Hematological parameters were found as erythrocyte count $86.0 \pm 7.5 \times 10^4/\text{mm}^3$, leukocyte count $18.2 \pm 2.8 \times 10^3/\text{mm}^3$, lymphocyte value $57.0 \pm 4.0\%$,

neutrophil value $28.6 \pm 3.7\%$, eosinophil value $13.3 \pm 2.5\%$ and monocyte $1.0 \pm 1.0\%$ (Zarejabad et al., 2010). In another study with beluga (*Huso huso*), Hoseinifar et al. (2011) were found erythrocyte count as $74.16 \pm 16.92 \times 10^4/\mu\text{L}$, leukocyte count as $20.18 \pm 0.99 \times 10^3/\mu\text{L}$, hematocrit value as $19.71 \pm 1.93\%$, lymphocyte value as $68.51 \pm 2.17\%$, neutrophil value as $21.96 \pm 2.49\%$, monocyte value as $4.66 \pm 1.02\%$ and eosinophil value as $4.41 \pm 1.73\%$. In addition to Matsche et al. (2014) determined hematological parameters reference intervals of Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*) sampled from three different regions as follows; RBC count ($\times 10^{12}$ cells/L) 0.90 - 1.24, hematocrit value (%) 21 - 26, WBC count ($\times 10^9$ cells/L) 21.0 - 33.7, lymphocytes ($\times 10^9$ cells/L) 12.5 - 22.7, neutrophils ($\times 10^9$ cells/L) 1.6 - 7.9, monocytes ($\times 10^9$ cells/L) 0.3 - 1.0 and eosinophils ($\times 10^9$ cells/L) 0 - 4.6.

The hematocrit values mentioned above by Köksal et al. (1999), Knowles et al. (2006), Bucur et al. (2009), Ghiasi et al. (2014) and Matsche et al. (2014) were found similar to the value we found in our study. The erythrocyte count in our research is similar to the values reported by Köksal et al. (1999), Knowles et al. (2006), Bucur et al. (2009), Zarejabad et al. (2010), Hoseinifar et al. (2011). In terms of leukocyte count, Köksal et al. (1999), Zarejabad et al. (2010) and Hoseinifar et al. (2011) reported close results to our study. Also, Zarejabad et al. (2010) in terms of lymphocyte value and Hoseinifar et al. (2011) in terms of eosinophil and neutrophil value reported similar results to our study. The data similar to our study in terms of monocyte levels were stated by Knowles et al. (2006) and Hoseinifar et al. (2011).

Differences in hematological parameters of fish may be due to varying environmental factors such as changes in the physicochemical parameters of the water, season, water temperature, stock density and photoperiod. Furthermore, many other factors affect hematological parameters in fish such as age, gender, stress, the content of feed, maturity, hypoxia and disease (Affonso et al. 2002; Ruchin 2007; Bucur et al. 2009; Sadati et al. 2011; Nesrin et al. 2018; Duman 2019b; Verep & Yıldırım, 2020).

It has been reported that activated macrophages increase IFN- γ production which plays an important role in the immune system and also stimulates cytotoxic and suppressor T cells (Mishima et al., 2004). In some studies conducted by Yin et al., (1997), Tafalla et al., (2001) in different types of fish such as catfish (*Clarias gariepinus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*), they found that the immune response occurred rapidly with increasing TNF- α levels. In a different study with sea bream (*Sparus aurata*), it has been noticed that in fish stimulated using concanavalin A (Con A) and phorbol myristate acetate (PMA), TNF- α activates macrophages against infection

and increases respiratory activity, phagocytosis and nitric oxide production (Mulero & Meseguer, 1998). To increase the effectiveness of cells participating in the immune response; cytokines, synthesized by stimulated lymphocytes, monocytes and macrophages, and some other somatic cells, regulate immunity and events, including systemic response to cell growth, healing and injury. Bacterial antigens which especially affecting T lymphocytes, increase the release of cytokines such as IL-1, IL-6 and IL-8 (Akdoğan & Yöntem, 2018). Additionally, Laing et al. (2002) reported that interleukin-8 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) has important effects on understanding and controlling the processes of inflammation and other immune functions. In fish, cytokines have a direct relationship with microbial interactions and the vital condition of the fish. Also, cytokines are one of the important indicators of non-specific immune response and they are considered to be important immune-activators involved in antigenic stimulation.

CONCLUSION

It is thought that hematological and immunological reference intervals are important in terms of early diagnosis, detection of diseases, treating diseases and reducing mortality in sturgeon culture. The first time to determine the reference values of these parameters is important, which are considered as indicators of fish health and stress fact for the Russian sturgeon. More research is recommended on the biology, physiology and development of these fish, which are very valuable due to their caviar.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Cukurova University Scientific Research Projects Unit. Project Number: FBA-2018-11062.

REFERENCES

- Affonso, E.G., Polez, V.L.P., Correa, C.F., Mazon, A.F., Araujo, M.R.R., Moraes, G. & Rantin, F.T. (2002). Blood parameters and metabolites in the teleost fish *Colossoma macropomum* exposed to sulfide or hypoxia. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, **133**, 375-382. DOI: [10.1016/S1532-0456\(02\)00127-8](https://doi.org/10.1016/S1532-0456(02)00127-8)
- Akdoğan, M. & Yöntem, M. (2018). Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, **3**(1), 36-45. DOI: [10.26453/otjhs.350321](https://doi.org/10.26453/otjhs.350321)
- Alyakrinskyaya, I.O. & Dolgova, S.N. (1984). Hematological features of young sturgeons. *Vopr Ikhtiol*, **4**, 135-139.
- Bahmani, M. (1998). Phylogenetic and systematic study on sturgeons. *Iranian scientific fisheries journal*, **7**(2), 9-30.

- Bahmani, M. (1999).** Application of biological characteristics of fish in aquaculture related to reproduction physiology. *Eighth Iranian National Conference of Biology*. 31 August - 2 September. Kermanshah, Iran (in Persian).
- Baker, D.W., Wood, A.M., Litvak, M.K. & Kieffer, J.D. (2005).** Haematology of juvenile *Acipenser oxyrinchus* and *Acipenser brevirostrum* at rest and following forced activity. *Journal of Fish Biology*, **66**(1), 208-221. DOI: [10.1111/j.0022-1112.2005.00595.x](https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00595.x)
- Bahmani, M., Kazemi, R. & Donskaya, P. (2001).** A comparative study of some hematological features in young reared sturgeons (*Acipenser persicus* and *Huso huso*). *Fish Physiology and Biochemistry*, **24**(2), 135-140. DOI: [10.1023/A:1011911019155](https://doi.org/10.1023/A:1011911019155)
- Blaxhall, P.C. (1972).** The haematological assessment of the health of freshwater fish: a review of selected literature. *J. Fish Biol.*, **4**, 593-604.
- Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W. (1973).** Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, **5**, 771-781.
- Bucur, C., Radu, D., Marica, N., Oprea, D. & Stancioiu, S. (2009).** Preliminary hematologic studies on *Polyodon spathula* (Walbaum, 1792) reared in controlled system. *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI--Food Technology*, **3**(33), 62-69.
- Cataldi, E., Di Marco, P., Mandich, A. & Cataudella, S. (1998).** Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **121**(4), 351-354.
- Chebanov, M.S. & Galich, E.V. (2011).** *Sturgeon hatchery manual*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. Ankara, Turkey.
- Docan, A., Grecu, I., Crețu, M., Antache, A. & Dediu, L. (2017).** Haematological and serum biochemical changes associated with bacteriological infection in *Acipenser gueldenstaedtii* reared in intensive condition. *Lucrări Științifice-Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Seria Zootehnie*, **67**, 104-109.
- Duman, S. & Şahan, 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 of Biology and Technology*, **61**. DOI: [10.1590/1678-4324-2018180283](https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018180283)
- Duman, S. (2019a).** The effect of anesthetic (2-phenoxyethanol) application on some biochemical and hematological parameters in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) during transport. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **43**(6), 825-833. DOI: [10.3906/vet-1812-96](https://doi.org/10.3906/vet-1812-96)
- Duman, S. (2019b).** Grading the Occurrence of Scoliosis Seen in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(2), 145-150. DOI: [10.35229/jaes.552819](https://doi.org/10.35229/jaes.552819)
- Düzgüneş, D., Kesici, T. & Gürbüz, F. (1983).** *İstatistik metodları-I*. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, Turkey.
- Fujimaki, Y. & Isoda, M. (1990).** Fine-structural study of leucocytes in the goldfish, *Carassius auratus*. *J. Fish Biol.* **36**, 821-831. DOI: [10.1111/j.10958649.1990.tb05630.x](https://doi.org/10.1111/j.10958649.1990.tb05630.x)
- Ghiasi, S., Falahatkar, B., Dabrowski, K., Abasalzadeh, A. & Arslan, M. (2014).** Effect of thiamine injection on growth performance, hematology and germinal vesicle migration in sterlet sturgeon *Acipenser ruthenus* L. *Aquaculture International*, **22**(5), 1563-1576. DOI: [10.1007/s10499-014-9765-7](https://doi.org/10.1007/s10499-014-9765-7)
- Hoseinifar, S.H., Mirvaghefi, A., Merrifield, D.L., Amiri, B.M., Yelghi, S. & Bastami, K.D. (2011).** The study of some haematological and serum biochemical parameters of juvenile beluga (*Huso huso*) fed oligofructose. *Fish Physiology and Biochemistry*, **37**(1), 91-96. DOI: [10.1007/s10695-010-9420-9](https://doi.org/10.1007/s10695-010-9420-9)
- Houston, J.B. & Carlile, D.J. (1997).** Incorporation of in vitro drug metabolism data into physiologically-based pharmacokinetic models. *Toxicology in Vitro*, **11**(5), 473-478. DOI: [10.1016/S0887-2333\(97\)00056-8](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(97)00056-8)
- Knowles, S., Hrubec, T.C., Smith, S.A. & Bakal, R.S. (2006).** Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultured shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*). *Veterinary Clinical Pathology*, **35**(4), 434-440. DOI: [10.1111/j.1939-165X.2006.tb00160.x](https://doi.org/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00160.x)
- Kocabatmaz, M. & Ekingen, G. (1984).** Standardization of haematological methods and taking blood from various fish species. *J. of Nature Sci.* **2**, 149-159.
- Laing, K.J., Zou, J.J., Wang, T., Bols, N., Hirono, I., Aoki, T. & Secombes, C.J. (2002).** Identification and analysis of an interleukin 8-like molecule in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Developmental & Comparative Immunology*, **26**(5), 433-444. DOI: [10.1016/S0145-305X\(01\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0145-305X(01)00092-1)
- Matsche, M.A., Arnold, J., Jenkins, E., Townsend, H. & Rosemary, K. (2014).** Determination of hematology and plasma chemistry reference intervals for 3 populations of captive Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*). *Veterinary Clinical Pathology*, **43**(3), 387-396. DOI: [10.1111/vcp.12174](https://doi.org/10.1111/vcp.12174)
- Mishima, S., Saito, K., Maruyama, H., Inoue, M., Yamashita, T., Ishida, T. & Gu, Y. (2004).** Antioxidant and immuno-enhancing effects of *Echinacea purpurea*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **27**(7), 1004-1009. DOI: [10.1248/bpb.27.1004](https://doi.org/10.1248/bpb.27.1004)

- Mulero, V. & Meseguer, J. (1998).** Functional characterisation of a macrophage-activating factor produced by leucocytes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, *8*(2), 143-156. DOI: [10.1006/fsim.1997.0127](https://doi.org/10.1006/fsim.1997.0127)
- Emre, N., Güroy, D., Yahm, F.B., Emre, Y., Güroy, B., Mantoğlu, S. & Karadal, O. (2018).** Growth Performance, Body Composition, Haematological and Serum Parameters to Fish Meal Replacement by Soybean Meal and Cottonseed Meal in Russian Sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, *4*(3), 169-176. DOI: [10.17216/limnofish.460773](https://doi.org/10.17216/limnofish.460773)
- Nussey, G., Van Vuren, J.H.J. & Du Preez, H.H. (1995).** Effect of copper on the haematology and osmoregulation of the Mozambique tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Cichlidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, *111*(3), 369-380. DOI: [10.1016/0742-8413\(95\)00063-1](https://doi.org/10.1016/0742-8413(95)00063-1)
- Ruchin, A.B. (2007).** Effect of photoperiod on growth, physiological and hematological indices of juvenile Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. *Biology Bulletin*. *34*, 583-589. DOI: [10.1134/S1062359007060088](https://doi.org/10.1134/S1062359007060088)
- Sadati, M.A.Y., Pourkazemi, M., Shakurian, M., Hasani, M.H.S., Pourali, H.R., Pourasaadi, M. & Yousefi, A. (2011).** Effects of daily temperature fluctuations on growth and hematology of juvenile *Acipenser baerii*. *Journal of Applied Ichthyology*, *27*(2), 591-594. DOI: [10.1111/j.1439-0426.2011.01667.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01667.x)
- Stolen, S.J., Fletcher, T.C., Rowley, A.F., Zelikoff, J.T., Kaattari, S.L. & Smith, S.A. (1994).** *Techniques in fish immunology*. Fish immunology technical communications. 1st ed. Virginia-Maryland, USA.
- Şahan, A., Duman, S., Çolak, S. Ö., 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*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *17*(1), 91-100. DOI: [10.4194/1303-2712-v17_1_11](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17_1_11)
- Tafalla, C., Figueras, A. & Novoa, B. (2001).** Viral hemorrhagic septicemia virus alters turbot *Scophthalmus maximus* macrophage nitric oxide production. *Diseases of Aquatic Organisms*, *47*(2), 101-107. DOI: [10.3354/dao047101](https://doi.org/10.3354/dao047101)
- Tavakoli, M., Fazli, H., Moghim, M., Khoshghalb, M.R., Valinasab, T. & Abdolmaleki, S. (2019).** Population ecological parameters and stock assessment of Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedti* Brandt & Ratzeburg, 1833 in the Southern Caspian Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, *35*(1), 378-386. DOI: [10.1111/jai.13730](https://doi.org/10.1111/jai.13730)
- Trenzado, C.E., Carrick, T.R. & Pottinger, T.G. (2003).** Divergence of endocrine and metabolic responses to stress in two rainbow trout lines selected for differing cortisol responsiveness to stress. *General and Comparative Endocrinology*, *133*(3), 332-340. DOI: [10.1016/S0016-6480\(03\)00191-6](https://doi.org/10.1016/S0016-6480(03)00191-6)
- Van Vuren, J.H. (1986).** The effects of toxicants on the haematology of *Labeo umbratus* (Teleostei: Cyprinidae). *Comparative Biochemistry and Physiology. C, Comparative Pharmacology and Toxicology*, *83*(1), 155.
- Verep, B. & Yıldırım, H. (2020).** Lepistes Balıklarında Bazı Herbisidlerin Akut Toksik Etkisinin Araştırılması. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, *5*(1), 106-114. DOI: [10.35229/jaes.708014](https://doi.org/10.35229/jaes.708014)
- Voller, A., Bartlett, A. & Bidwell, D.E. (1978).** Enzyme immunoassays with special reference to ELISA techniques. *Journal of Clinical Pathology*, *31*(6), 507-520.
- Yin, Z., Lam, T.J. & Sin, Y.M. (1997).** Cytokine-mediated antimicrobial immune response of catfish, *Clarias gariepinus*, as a defence against *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, *7*(2), 93-104.
- Zarejabad, A.M., Jalali, M.A., Sudagar, M. & Pouralimotlagh, S. (2010).** Hematology of great sturgeon (*Huso huso* Linnaeus, 1758) juvenile exposed to brackish water environment. *Fish Physiology and Biochemistry*, *36*(3), 655-659. DOI: [10.1007/s10695-009-9339-1](https://doi.org/10.1007/s10695-009-9339-1)



Relationship of Urban Development with the Heat Islands, Trabzon Case Study

Burak KAZANCI* **Fulya Başak SARIYILMAZ**

Gumushane University, Faculty of Engineering and Natural Sciences, Department of Geomatics, Gumushane, Turkey

Geliş/Received: 28.01.2020

Kabul/Accepted: 10.06.2020

How to cite: **Kazancı, B. & Sarıyılmaz, F.B. (2020).** Relationship Of Urban Development With The Heat Islands, Trabzon Case Study. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 218-223.

Atıf yapmak için: **Kazancı, B. & Sarıyılmaz, F.B. (2020).** Kentsel Gelişimin Isı Adalarına Etkisinin Araştırılması, Trabzon İli Örneği. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 218-223.

*[ID](https://orcid.org/0000-0001-8652-7142): <https://orcid.org/0000-0001-8652-7142>
[ID](https://orcid.org/0000-0002-4950-3771): <https://orcid.org/0000-0002-4950-3771>

***Corresponding author's:**
Burak KAZANCI
Gumushane University, Faculty of
Engineering and Natural Sciences, Department
of Geomatics, Gumushane, Turkey
✉: burakkazanci61@gmail.com
Mobile telephone : +90 (534) 862 84 28

Abstract: Trabzon, a developing port town province that is located near the Black Sea region of Turkey. Trabzon, the 29th most crowded province of Turkey shows the intensity of urbanization on the coastal zone. In this study, it is aimed to examine the urban development of Trabzon province by using various remote sensing methods and data. Depending on the characteristic of urban development within the boundaries of the province, the change in the artificial surfaces has been investigated by using optical remote sensing methods in the selected test region. For this purpose, LANDSAT images of the study area, 1989, 2000, 2006 and 2018 were provided. Pixel-based supervised classification was applied to the images and the land use and land cover (LULC) classes of the study area were determined. In the second stage of the study, the development of artificial surfaces was investigated by using thermal remote sensing methods. For this purpose, the surface temperature map of the region has been established. By using the thermal bands of the images, top of atmospheric spectral radiance and then brightness temperature were calculated. NDVI, proportion of vegetation and ground emissivity were also calculated by using red and near infrared bands. These informations were used in the LST calculation. As a result of the study, the urban development and change taking place in Trabzon by using different remote sensing data and methods were examined.

Keywords: Artificial Surface, Classification, Heat Island.

Kentsel Gelişimin Isı Adalarına Etkisinin Araştırılması, Trabzon İli Örneği

Öz: Trabzon, Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi'nde yer alan gelişmekte olan bir liman kentidir. Türkiye'nin en kalabalık 29. vilayeti olan Trabzon'da daha çok kıyı bölgelerde yerleşim mevcuttur. Bu çalışmada Trabzon ilinin kentsel gelişiminin çeşitli uzaktan algılama yöntemleri ve verileri kullanılarak incelenmesi amaçlanmıştır. İlin sınırları içindeki kentsel gelişimin özelliklerine bağlı olarak, seçilen bölgede optik uzaktan algılama yöntemleri kullanılarak yapay yüzeylerdeki değişim araştırılmıştır. Bu amaçla 1989, 2000, 2006 ve 2018 tarihli LANDSAT görüntüleri kullanılmıştır. Görüntülere piksel tabanlı kontrollü sınıflandırma işlemi uygulanmış ve çalışma alanının arazi kullanımı ve arazi örtüsü sınıfları belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında termal uzaktan algılama yöntemleri kullanılarak yapay yüzeylerin gelişimi araştırılmıştır. Bu amaçla bölgenin yüzey sıcaklık haritası oluşturulmuştur. Görüntülerin termal bantları kullanılarak, atmosfer üstü spektral ışıma ve daha sonra parlaklık sıcaklığı hesaplanmıştır. NDVI değerleri, bitki oranı ve yer emisyonu haritaları da kırmızı ve yakın kızılötesi bantlar kullanılarak hesaplanmıştır. Bu bilgilerin tümü arazi yüzey sıcaklığı haritalarının oluşturulmasında ve kentsel ısı adası etkisinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Çalışma sonucunda farklı uzaktan algılama verileri ve yöntemleri kullanılarak Trabzon'da gerçekleşen kentsel gelişim ve değişim incelenmiştir.

***Sorumlu yazar:**
Burak KAZANCI
Gümüşhane Üniversitesi, Mühendislik ve
Doğa Bilimleri Fakültesi, Geomatik Bölümü,
Gümüşhane, Turkey
✉: burakkazanci61@gmail.com
Cep telefonu : +90 (534) 862 84 28

Anahtar kelimeler: Yapay yüzeyler, sınıflandırma, ısı adası.

INTRODUCTION

In urban areas, conditions that are of primary importance for human life, such as work, education, health service and residential areas, lead to population growth. With the increasing population, LULC in the cities show a dynamic change. While the areas covered with artificial surfaces increase, the areas covered with vegetation are gradually decreasing. Urban buildings hold a significant amount of solar radiation and affect atmospheric properties in these areas. Urban heat islands (UHIs) are formed in this way. The regions that have higher temperature characteristics than the rural areas in the cities are called as UHI.

More successful and efficient planning is needed to reduce the negative effects of heat islands in urban areas. In order to make these plans, the UHIs should be determined first of all. Remote sensing methods and satellite imagery allow these areas to be identified in less time with less cost. There are many studies examining the relationship between heat islands and LULC using satellite imagery and digital image processing methods (Weng, et al., 2004; Chen, et al., 2006; Zhang, et al., 2009; Jiang, et al., 2010; Li, et al., 2011; Estoque, et al., 2017; Pal, et al., 2017; Yüksek, 2017; Wang, et al., 2018, Du, et al., 2019, Wang, et al., 2019, Sultana and Satyanarayana, 2020). When these studies were examined, it was determined that higher temperatures were calculated in areas covered with artificial surfaces and lower temperatures in areas covered with vegetation and water.

Study Area: Ortahisar District of Trabzon was chosen as the study area. Trabzon is the 29th most populous city of Trabzon (Url-1, 2019). The city is located in the Eastern Black Sea Region of the Black Sea Region. Trabzon and also Ortahisar District have coasts to the Black Sea. After a narrow coastline, the province has an area covered with mountains extending perpendicular to the sea. The temperature in Trabzon varies between 7.4 and 23.5 °C throughout the year (Url-1, 2019). Figure 1 shows the study area, Trabzon and Ortahisar District.



Figure 1. The Study area: Trabzon and Ortahisar Distirct.

Ortahisar is the district with the highest population density in Trabzon. Trabzon became a metropolitan municipality with the law adopted on 12 November 2012. The central district was abolished, and Ortahisar District was established by this law (Url-1, 2019). The area of Ortahisar is approximately 235 km². The port was built in 1954 and the airport was built in 1957 inside the district (Url-1, 2019).

MATERIAL USED

In order to determine LULC in Ortahisar District and, to obtain the surface temperature map of the study area; LANDSAT 5 TM and LANDSAT 8 OLI images of September 1989, 2000, 2006 and 2018 were used. The satellite images used were provided free of charge from the LANDSAT USGS website and in the UTM WGS 84 coordinate system and datum. Table 1 shows LANDSAT 5 TM and LANDSAT 8 OLI sensor properties (Url-2 2019, Url-3, 2019).

Table 1. LANDSAT 5 TM and LANDSAT 8 OLI sensor features.

Bands	LANDSAT 5	LANDSAT 8
Band 1	30 m Blue	30 m Coastal/Aerosol
Band 2	30 m Green	30 m Blue
Band 3	30 m Red	30 m Green
Band 4	30 m NIR	30 m Red
Band 5	30 m SWIR-1	30 m NIR
Band 6	60 m TIR	30 m SWIR-1
Band 7	30 m SWIR-2	30 m SWIR-2
Band 8	-	15 m PAN
Band 9	-	30 m Cirrus
Band 10	-	100 m TIR-1
Band 11	-	100 m TIR-2

Band 10 of LANDSAT 8 OLI image were used for thermal remote sensing studies, because this band is compatible with the band 6 of LANDSAT 5 TM image.

In addition, the surface temperatures obtained from the meteorological stations were used in order to compare the calculated surface temperatures.

METHOD

In the first stage of the study, artificial surface areas in the region were determined by using optical remote sensing methods. In this study, land cover and land use in Ortahisar District were determined primarily. For this purpose, pixel based classification was performed by using unsupervised and supervised classification algorithm. In the second stage of the study, artificial surface areas in the region were determined by using thermal remote sensing methods. For this purpose, land surface temperatures were determined and mapped by using NDVI thresholding method.

Classification: The overall objective of image classification procedures is to automatically categorize all of the pixels in an image into land cover classes or themes (Lillesand et al., 2004). In this study, pixel based classification method was used for this aim. To obtain LULC classes based on CORINE database level one unsupervised and supervised classification algorithms used together as a hybrid classification.

An accuracy assessment process was performed for each classified images by using error matrix. In order to express the thematic accuracy of the classified image, the overall accuracy and the kappa statistical value was calculated by using random sample points. The binomial sampling method was used to determine the number of samples. The equation used in the binomial sampling method was as follows (VanGenderen et al., 1977; Fitzpatrick, et al, 1981):

$$N = (Z^2pq)/E^2 \tag{1}$$

In this equation; N is the number of samples, p is the expected accuracy, q= 100 – p, E is the error tolerance and Z is the standard normal deviation (For %95 confidence interval, it is equal to 1.96).

Thermal Band Processing: The process steps for determining the land surface temperature (LST) and mapping the urban heat island effect are shown in the Figure 2.

In this study, the TIR band was used to estimate brightness temperature and red band and near infrared (NIR) band were used for calculating the NDVI. The metadata of the satellite images used in the algorithm is presented in Table 2 (Avdan, et al., 2016; Yamak, et al., 2019).

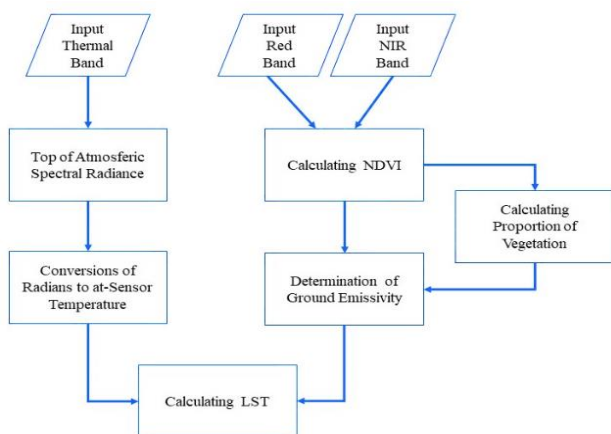


Figure 2. Flowchart for LST.

Table 2. Metadata of LANDSAT Images

Metadata		LANDSAT 5	LANDSAT 8
K ₁	Thermal	607,76	774,8853
K ₂	Constant	1260,56	1321,0789
M ₁	Rescaling	0,055375	0,0003342
A _L	Factor	1,18243	0,1
O _i	Correction	-	0,29

The first step of the process is to calculate the top of atmospheric (TOA) spectral radiance (L_λ) by using the Formula 4 and metadata taken from the USGS web page:

$$L_\lambda = M_L * Q_{cal} + A_L - (O_i) \tag{4}$$

where M_L represents the band-specific multiplicative rescaling factor, Q_{cal} is the thermal infrared (TIR) band of the image, A_L is the band-specific additive rescaling factor, and O_i is the correction for the TIR band of LANDSAT 8 data (Barsi et al., 2014, Avdan, et al., 2016).

After the digital numbers (DNs) of the TIR band are converted to reflection, the data should be converted from spectral radiance to brightness temperature (BT) using the thermal constants provided in the metadata file. The following equation is used to convert reflectance to BT (Avdan, et al., 2016; Yamak, et al., 2019):

$$BT = (K_2 / (\ln[(K_1/L_\lambda) + 1])) - 273.15, \tag{5}$$

where K_1 and K_2 stand for the band-specific thermal conversion constants from the metadata.

Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) was calculated for all images in the next stage of the study. The calculation of the NDVI is needed because, the proportion of the vegetation (P_v) should be calculated subsequently, and they are highly related with the NDVI results, and then emissivity (ϵ) was calculated, which is related to the P_v .

NDVI is calculated by using red and NIR bands as shown in the Formula 6 (Ratnayake, 2012):

$$NDVI = (NIR - Red) / (NIR + Red) \tag{6}$$

P_v is also calculated based on NDVI results as shown in the Formula 7 (Wang, et al., 2015; Avdan, et al., 2016):

$$P_v = ((NDVI - NDVI_{min}) / (NDVI_{max} - NDVI_{min}))^2 \tag{7}$$

After this stage, in order to calculate the LST, it is necessary to calculate the land surface emission (LSE). Equation used for this purpose is given in Formula 8 (Sobrino, et al., 2004; Avdan et al., 2016):

$$\epsilon_\lambda = \epsilon_v P_v + \epsilon_s (1 - P_v) + C, \tag{8}$$

where ϵ_v and ϵ_s are the vegetation and soil emissivities, respectively, and C represents the surface roughness ($C = 0$ for homogenous and flat surfaces) taken as a constant value of 0.005 (Sobrino, et al., 2000; Avdan, et al., 2016).

Formula 9 and Formula 10 were used to calculate LST after calculation LSE (Stathopoulou, et al., 2007; Avdan, et al., 2016).

$$LST = (BT / (1 + ((\lambda BT / \rho) \ln \epsilon_\lambda))) \tag{9}$$

where λ is the wavelength of emitted radiance (for which the peak response and the average of the limiting wavelength ($\lambda = 10.895$) (Markham, et al., 1985; Avdan et al., 2016) will be used) and

$$\rho = h * (c / \phi) = 1.438 \times 10^{-2} \text{ m K}, \tag{10}$$

where ϕ is the Boltzmann constant (1.38×10^{-23} J/K), h is Planck's constant (6.626×10^{-34} Js), and c is the velocity of light (2.998×10^8 m/s) (Barsi, et al, 2014; Avdan et al., 2016).

After the calculation of LST, the urban heat island (UHI) effect was analyzed by using Formula 11:

$$UHI = \mu + (\sigma/2) \tag{11}$$

Where μ is the average LST value of the study area and σ is the standard deviation of the LST (Yamak, et al., 2019).

RESULTS AND CONCLUSION

In this study, unsupervised and supervised classification methods were applied as hybrid classification to all the images to determine the LULC classes. As a result of classification process, four classes based on the first level of CORINE classification system were determined in the study area. These classes are forest and semi-natural areas (FSNA), water bodies (WB), artificial surfaces (AS) and agricultural areas (AA). Figure 3 shows the classification result.

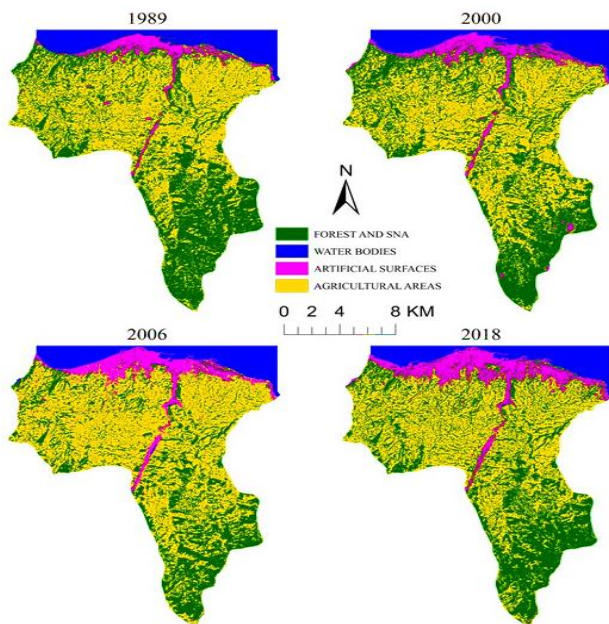


Figure 3. Classified Images.

Accuracy analysis was applied to the images after classification process. As a result of this analysis, overall accuracy and kappa statistical value of all classified images were calculated. Table 4 shows the results of the accuracy analysis.

Table 4. Accuracy analysis results.

Date	Overall Accuracy	Kappa Statistical Value
1989	89%	0.83
2000	84%	0.77
2006	85%	0.78
2018	85%	0.79

As a result of the classification process, it was determined which thematic class covers how much areas of the image. These values are shown in the Table 5.

Table 5. Classification results.

Classes	Years			
	1989	2000	2006	2018
FSNA	43%	42%	33%	43%
WB	11%	11%	10%	10%
AS	4%	5%	8%	9%
AA	42%	42%	49%	38%
TOTAL	100%	100%	100%	100%

When the Table 5 is examined, it is understood that the artificial surface areas within the study area increased by 125% in the period between 1989 and 2018.

In the next stage of the study, the LSTs were calculated for each year by following the process steps. The LST value varied between 12-27 °C in 1989, 8-27 °C in 2000, 11-31 °C in 2006 and 15-28 °C in 2018. Accordingly, the year in which the maximum temperature is highest is 2006 and the year in which the minimum temperature is highest is 2018. Figure 4 shows the LST maps.

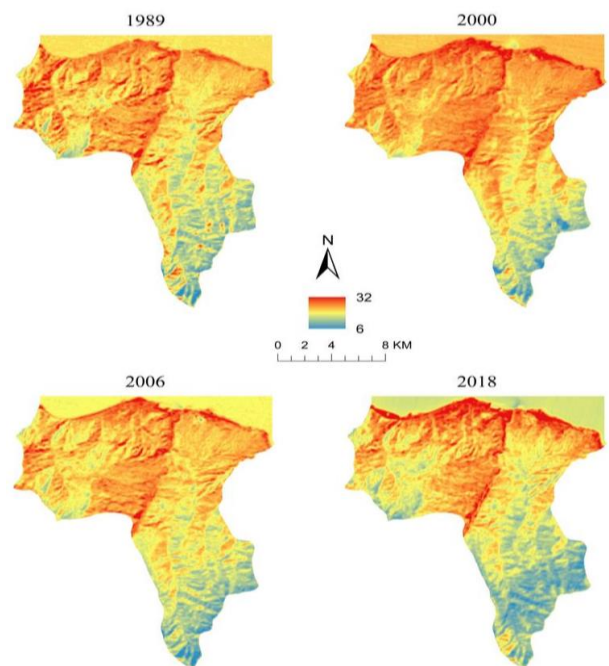


Figure 4. LST Maps.

Table 6. Temperature values.

Station Name	Soil T. (07:00)	Soil T. (Average)	LST
	29.09.1989		
Trabzon	18.2	22.3	21.6
	11.09.2000		
Trabzon	16.9	20.9	20.7
	28.09.2006		
Airport	-	23.7	22.1
	13.09.2018		
Trabzon	20.4	24.5	22.6

In order to compare with the LST values, the temperature values measured at the stations within the

boundaries of the study area were obtained from the Turkish State Meteorological Service. These values are given in Table 6. When Table 6 is examined, it is understood that the calculated values and the measured values are compatible with each other.

UHI effect was calculated in the last stage of the study. According to this, it was determined that UHI was affected by hotter than 19.91 degrees in 1989, 19.81 degrees in 2000, 22.32 degrees in 2006 and 21.37 degrees in 2018. The maps showing the relationship between the artificial surfaces and UHI are given in Figure 5.

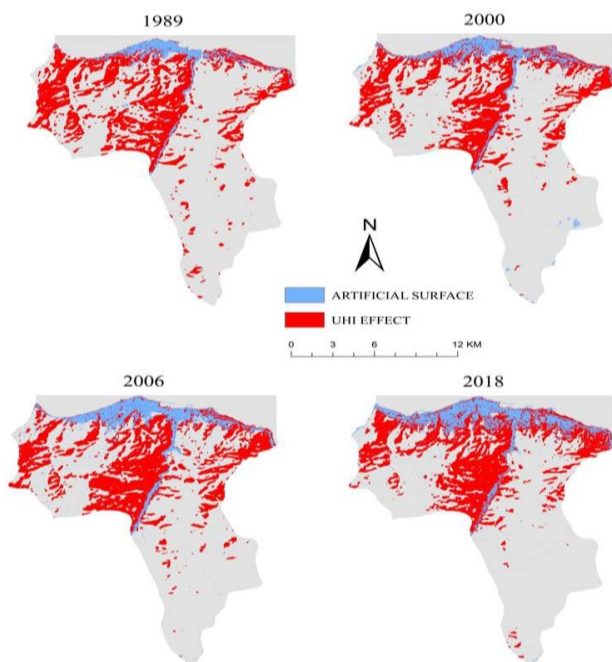


Figure 5. Comparison of UHI with Classification Results.

In this study, it is aimed to reveal the effect of urbanization on LST. For this purpose, LANDSAT images dated 1989, 2000, 2006 and 2018 were used. First of all, the LULC classes in Ortahisar District were determined. Then, LST maps were generated by NDVI thresholding method using thermal, red and NIR bands. Using LST maps, the areas where UHI effect was observed were determined. Accordingly, in the period from 1989 to 2018, it was calculated that there was a 13% increase in the areas where UHI effect was observed. When the images are examined, it is seen that the temperature rises to the highest levels around residential areas, airports, ports and roads. The results obtained with this study can be used to make environmental plans by decision makers.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was presented as an oral presentation at International Symposium on Applied Geoinformatics (ISAG) 2019.

REFERENCES

- Avdan, U. & Jovanovska, G. (2016).** Algorithm for automated mapping of land surface temperature using LANDSAT 8 satellite data, *Journal of Sensors*.
- Barsi, J. A., Schott, J. R., Hook, S. J., Raqueno, N. G., Markham, B. L. & Radocinski, R. G. (2014).** Landsat-8 thermal infrared sensor (TIRS) vicarious radiometric calibration. *Remote Sensing*, *6*(11), 11607-11626.
- Chen, X. L., Zhao, H. M., Li, P. X. & Yin, Z. Y. (2006).** Remote sensing image-based analysis of the relationship between urban heat island and land use/cover changes. *Remote Sensing of Environment*, *104*, 133-146.
- Du, H., Ai, J., Cai, Y. & Liu, P. (2019).** Combined effects of the surface urban heat island with landscape composition and configuration based on remote sensing: A case study of Shanghai, China. *Sustainability*, *11*(10), 1-13.
- Estoque, R. C., Murayama, Y., & Myint, S. W. (2017).** Effects of landscape composition and pattern on land surface temperature: An urban heat island study in the megacities of Southeast Asia. *Science of the Total Environment*, *577*, 349-359.
- Fitzpatrick-Lins, K. (1981).** Comparison of sampling procedures and data analysis for a land use and land cover map. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, *47*, 343-351.
- Jiang, J. & Tian, G. (2010).** Analysis of the impact of land use/land cover change on land surface temperature with remote sensing. *Procedia Environmental Sciences*, *2*, 571-575.
- Li, J., Song, C., Cao, L., Zhu, F., Meng, X. & Wu, J. (2011).** Impacts of landscape structure on surface urban heat islands: A case study of Shanghai, China. *Remote Sensing of Environment*, *115*, 3249-3263.
- Lillesand, T.M., Kiefer, R.W. & Chipman, J.W., (2004).** *Remote Sensing and Image Interpretation*. 5th Edition, Wiley, USA.
- Markham B. L. & Barker, J. L. (1985).** Spectral characterization of the Landsat Thematic Mapper sensors. *International Journal of Remote Sensing*, *6*(5), 697-716.
- URL-1.** <https://tr.wikipedia.org/wiki/Trabzon>, 29.09.2019
- URL-2.** <https://www.usgs.gov/media/images/landsat-8-band-designations>, 29.09.2019
- URL-3.** https://www.usgs.gov/faqs/what-are-best-landsat-spectral-bands-use-my-research?qt-news_science_products=0#qt-news_science_products, 29.09.2019
- Pal, S. & Ziaul, S. (2017).** Detection of land use and land cover change and land surface temperature in English Bazar urban centre. *The Egyptian Journal of Remote Sensing and Space Sciences*, *20*, 125-145.
- Ratnayake, R. (2002).** Forest cover estimation using Normalised Difference Vegetation Index (NDVI) in plantation forest. *Remote Sensing for*

- Agriculture, Ecosystems, and Hydrology III, Manfred Owe, Guido D'Urso, Editors, Proceedings of SPIE, 4542 SPIE 0277-786X/02.
- Sobrinho, J.A., Jimenez-Munoz, J.C. and Paolini, L. (2004).** Land surface temperature retrieval from LANDSAT TM 5. *Remote Sensing of Environment*, **90**(4), 434-440.
- Sobrinho J. A. & Raissouni, N. (2000).** Toward remote sensing methods for land cover dynamic monitoring: application to Morocco. *International Journal of Remote Sensing*, **21**(2), 353-366.
- Stathopoulou, M. & Cartalis, C. (2007).** Daytime urban heat islands from Landsat ETM+ and Corine land cover data: an application to major cities in Greece. *Solar Energy*, **81**(3), 358-368.
- Sultana, S. & Satyanarayanan, A.N.V. (2020).** Assessment of urbanisation and urban heat island intensities using landsatimageries during 2000-2018 over a sub-tropical Indian City. *Sustainable Cities and Society*, **52**, 1-14. DOI: [10.1016/j.scs.2019.101846](https://doi.org/10.1016/j.scs.2019.101846)
- Van Genderen, J.L. & Lock, B.F. (1977).** Testing land use map accuracy. *Photogrammetric Engineering and Remote Sensing*, **43**(9), 1135-1137.
- Wang, F., Qin, Z., Song, C., Tu, L., Karnieli, A. & Zhao, S. (2015).** An improved mono-window algorithm for land surface temperature retrieval from landsat 8 thermal infrared sensor data. *Remote Sensing*, **7**(4), 4268-4289.
- Wang, S., Ma, Q., Ding, H. & Liang, H. (2018).** Detection of urban expansion and land surface temperature change using multi-temporal Landsat images. *Resources, Conservation and Recycling*, **128**, 526-534.
- Wang, W., Liu, K., Tang, R. & Wang, S. (2019).** Remote sensing image-based analysis of the urban heat island effect in Shenzhen, China. *Physics and Chemistry of the Earth*, **110**, 168-175.
- Weng, Q., Lub, D. & Schubringa, J. (2004).** Estimation of land surface temperature-vegetation abundance relationship for urban heat island studies. *Remote Sensing of Environment*, **89**, 467-481.
- Yamak, B., Yagci, Z., Bilgilioglu, B.B. & Comert, R. (2019).** Investigation of the effect of urbanization on land surface temperature: Bursa Case Study, <https://www.researchgate.net/publication/333758700>, Conference paper, pp. 189-195 (In Turkish).
- Yüksek, T. (2017).** Land Use, Some Forestry Studies and a General Evaluation of the Temporal Distribution of Precipitation in Rize. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **2**(3), 59-66.
- Zhang, X., Zhong, T., Wang, K. & Cheng, Z. (2009).** Scaling of impervious surface area and vegetation as indicators to urban land surface temperature using satellite data, *International Journal of Remote Sensing*, **30**(4), 841-859.



Streptomyces Suşlarında Farklı Genetik Manipulasyonların Ksilinaz Enzim Üretimi Üzerine Etkisi ^[*]

Fatma Esen SARIGÜLLÜ ÖNALAN*

Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik Bölümü, Kilis

Geliş/Received: 24.01.2020

Kabul/Accepted: 12.06.2020

Atıf yapmak için: Sarigüllü Önalın, F.E. (2020). Streptomyces Suşlarında Farklı Genetik Manipulasyonların Ksilinaz Enzim Üretimi Üzerine Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 224-230.

How to cite: Sarigüllü Önalın, F.E. (2020). Effect of Different Genetic Manipulations on the Production of Xylanase Enzyme in *Streptomyces* Strains. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 224-230.

*ID: <https://orcid.org/0000-0002-1374-4338>

***Sorumlu yazarın:**

Fatma Esen SARIGÜLLÜ ÖNALAN
Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik
Bölümü, Kilis, Türkiye.
✉: esenonalan@kilis.edu.tr
Cep telefonu : +90 (535) 892 48 88

Öz: Çukurova Üniversitesi'nin beş farklı bölgesinden alınan toprak örneklerinden üç Streptomyces suşu izole edildi. S40, S47, S48 suşlarının yedi gün sonundaki ksilinaz aktivitesi sırasıyla 50,92 U/mL, 49,51 U/mL, 47,79 U/mL tespit edilmiştir. Yüksek ksilinaz aktivitesi gösteren bu suşlar arasında gerçekleştirilen protoplast füzyon çalışması sonucu farklı koloni morfolojisi gösteren dokuz suş seçilmiştir. (40-48) R2 ve (47-48) R3 suşlarının ksilinaz aktivitesi ebeveyn suşlara göre sırasıyla %25,9 ve %31,9 oranında arttığı tespit edilmiştir. S47-S48'den elde edilen R3 füzyonu ebeveyn tiplerine göre enzim aktivitesi ve protein miktarı açısından %131'lik artışla en verimli suş olduğu ortaya konmuştur. Protoplast füzyon tekniğiyle enzim aktivitesinin geliştirilebileceği gösterilmiştir. Ayrıca protoplast füzyonuyla bakterilerin hücre duvarlarının parçalanmasıyla oluşan rekombinant türlerde selüloz ve ksilinaz gibi enzimleri kodlayan genlerin aktivitesi geliştirilebilir.

Anahtar kelimeler: ksilinaz, protoplast füzyonu, *Streptomyces*.

Effect of Different Genetic Manipulations on the Production of Xylanase Enzyme in *Streptomyces* Strains

Abstract: Three *Streptomyces* strains were isolated from soil samples collected from five different areas of Cukurova University. Strains were named as S40, S47, S48. After 7 days incubation, xylanase activities of S40, S47 and S48 strains were calculated as 50.92 U/mL, 49.51 U/mL and 47.79 U/mL respectively. The protoplast fusion among these strains showing the high enzyme activity was carried out. The nine strains were selected having the different colony morphologies following this the fusion. The xylanase activities of (40-48) R2 and (47-48) R3 strains were observed the increase of 25.9 and 31.9% according to parents respectively. R3 fusion strain was revealed to be the most efficient strain with 131% increase in terms of enzyme activity and protein amount of (47-48) R3 recombinant, compared to S47-S48 wild type. Our studies indicated to improve the enzyme activity of *Streptomyces* strains by protoplast fusion technique. Also, the activity of genes coded enzymes such as xylanase and cellulase in recombinant species formed lyzing cell wall by this technique can be developed.

Keywords: Protoplast fusion, *Streptomyces*, xylanase.

***Corresponding author's:**

Fatma Esen SARIGÜLLÜ ÖNALAN
Kilis 7 Aralık Üniversitesi, Yusuf Şerefoğlu
Sağlık Bilimleri Fakültesi, Hemşirelik
Bölümü, Kilis, Türkiye.
✉: esenonalan@kilis.edu.tr
Mobile telephone : +90 (535) 892 48 88

GİRİŞ

Saprofit bakteriler olarak bilinen aktinomisetlerden özellikle Streptomyces cinsi organik maddeleri özellikle lignoselüloz, nişasta ve kitin gibi polimerleri ayrıştırırlar (Crawford vd., 1993). Extraselüler hidrolitik enzimler, aktinomisetlerin doğal habitatındaki besin rekabetine olanak sağlar. Aktinomisetler gelişimleri için toprakta en bol miktarda bulunan karbon kaynağı olarak bilinen

lignoselülozları kullanırlar (Trigo ve Ball, 1994). Aktinomisetler gibi biyomas parçalayıcı mikroorganizmalar diğer mikroorganizmalarla sinerjik çalışarak topraktaki lignoselülozlara saldıracak farklı enzimler üretirler. Aktinomisetlerden Streptomyces generu endüstride kullanılan birçok hidrolitik enzimlerin üreticileri oldukları bilinmektedir. *S. scopiformis* (Li vd., 2002), *S. yunnanensis*

[*] ,Bu çalışma, doktora tezinden üretilmiştir.

This study was produced from the doctora thesis.

(Zhang vd., 2003), *S. grievus* (Vigal vd., 1994) suşlarından alfaamilaz; *S. galbus* (Kansoh ve Nagieb, 2004), *S. albus* (Antonopoulos vd., 2001), *S. speibonae* (Meyers vd., 2003) suşlarından ksilanaz; *S.cinnamoneus* (Sommer vd., 1997), *S. rimosus* (Vujaklija vd., 2002), *S. seoulensis* (Chun vd., 1997) suşlarından lipaz; *S. lividans* TK 24 (Aretz vd., 1989) proteaz ; *S. murinus* (Bandlish vd., 2002), *S. olivaceoviridis* E-86 (Kaneko vd., 2001), *S. thermovulgaris* 127 (Raykovska vd., 2001) suşlarından ksiloizomeraz enzimlerin üretildiği rapor edilmiştir. Streptomyces cinsinin ürettiği enzimlerden ksilanazlar; lignoselülozların parçalanmasında rol oynayan önemli endüstriyel enzim olduğundan litaratürlerde yaygın bir şekilde bahsedilmektedir (Nascimento vd., 2002). Lignosellülozik biyokütle en büyük yenilenebilir kaynaklardan biri olduğundan bunların dönüşümünü sağladıklarından hem çevre kirliliğini önler (Bajaj vd., 2010; Wang vd., 2003) hem de kağıt, kağıt hamuru, tekstil endüstrisi gibi birçok alanda kullanılırlar. Buna ek olarak ksilanolitik enzimler yemek, kek ve diğer besinlerin (hamurdaki polisakaritleri yıkarak) pişirilmesini hızlandırır. Hayvan besinlerine ksilanaz eklendiğinde yem viskozitesini azaltarak, kümes hayvanlar tarafından buğdayın sindirilmesine yardım ederler. Böylece yemden etkin yararlanma dolayısıyla kilo artışı sağlarlar (Nascimento vd., 2002). Ksilanaz enziminin endüstriyel kullanımlarda uygulanabilirliğini genetik ilerlemelerle artırılabilir. Genetik manipülasyonlar ve mutasyonlar kullanılarak enzim aktivitesinin artırıldığı etkili suşlar oluşturulabilir. (Kieser vd., 2000).

MATERYAL VE METOT

Streptomyces Suşlarının İzolasyonu: Çukurova Üniversitesi 5 farklı bölgesinden toprak örnekleri alınmıştır. 10 mL toprak süspansiyonu 20 dk 1000 rpm'de santifüj edilmiştir. Süpernatanttan 1 mL alınıp steril dH₂O ile 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ konsantrasyonlarda sulandırılarak her birinden 100 µL alınıp streptomisetler için selektif besiyeri olan Bennet's Agar, Nişasta Kazein Agar, Gliserol Maya Agar besiyerlerine yayılıp 30°C de 2-4 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu üst yüzeyleri girintili çıkıntılı, derimsi koloniler şeklinde görülen koloniler seçilmiştir. Elde edilen koloniler spor zincir morfolojileri mikroskopta incelendi. Streptomyces cinsine özgü spor zincir morfolojisi gösteren suşlar seçilmiştir. Seçilen suşlar sporülasyon besiyerinde 30°C de spor meydana getiren kadar 14 gün inkübe edildi. Besiyerindeki sporlar alınarak %50 gliserol çözeltisinde resüspanse edilip -20°C de saklanmıştır.

Ksilanaz Aktivitesinin Katı Besiyerinde Belirlenmesi: Ksilanlı agar besiyerine ekilen Streptomyces suşları 7 gün 30°C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda besiyerine %0,1 lik Kongo kırmızısı çözeltisinden dökülerek 15 dk boyama işlemi

gerçekleştirilmiştir. Boyamadan fazla boyanın ortamdaki uzaklaştırılması için besiyerine 1M NaCl çözeltisi ilave edilmiş 15 dk inkübasyon yapılmıştır. Etrafında sarı hidroliz zonu bulunan suşlar ksilanaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Aygan, 2008).

Ksilanaz Enziminin Kısmi Saflaştırılması: Katı besiyerinde ksilanaz aktivitesi gösterdiği saptanan Streptomyces suşlarından hazırlanan 100 µL spor süspansiyonu ksilanlı sıvı besiyerine ekilerek 30°C'de 7 gün süreyle 150 devir/dk da ön inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonrasında 100 mL'lik ksilanlı besiyerlerine aktarılıp 7 gün 30°C'de inkübe edildikten sonra suşlar +4°C de 8000 rpm'de 30 dk santifüj edilerek çöktürülmüş ve süpernatant temiz bir tüpe alınıp üzerine hacminin %70'i kadar %96'lık alkol ilave edildi. Örnekler bir gece -30°C'de bekletilmiştir. Çöken örnek +4°C de 8000 rpm'de santifüj edilerek enzim sıvı fazdan geri kazanılmıştır. Çökelti pH'sı 7 olan fosfat tamponunda çözüldü ve -30°C de muhafaza edilmiştir (Aygan, 2008).

Ksilanaz Aktivitesinin Belirlenmesi: Katı besiyerinde ksilanaz aktivitesi gösterdiği saptanan Streptomyces suşlarından hazırlanan 100 µL spor süspansiyonu ksilanlı sıvı besiyerine ekilerek 30°C'de 7 gün süreyle 150 devir/dk da ön inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonrasında 100 mL ksilanlı besiyerlerine aktarılıp 7 gün 30°C'de inkübe edilmiştir. 7 gün boyunca ksilanaz enzim aktivitesini belirlemek için sıvı kültür inkübasyonundan 24 saat aralıklarla aseptik koşullar altında 1 mL örnek alınmıştır. Örnek 10000 rpm'de 5 dk santifüj edilip biyomas ve diğer partiküllerden arındırılan süpernatant sıvısı ham enzim preparatı olarak kullanılmıştır. Çalışmalar sırasında 0,2 mL enzim preparatı, 1,8 mL %1 lik ksilan (50 mM pH:5,3 sitrat tamponuyla hazırlanmış) süspansiyonu 50°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda 3 mL DNS çözeltisi eklenerek 15 dakika kaynar suda bekletilmiş ve buzda soğutulan örnekler 540 nm'deki optik densiteleri spektrofotometreyle ölçülerek aktivite hesaplanmıştır. Bir ünite (U) ksilanaz aktivitesi, analiz koşulları altında, milimetre başına 1 dakikada 1 mikromol indirgenmiş şeker salınımına neden olan enzim miktarı olarak hesaplanmıştır (Bailey vd., 1992).

Protein Miktarının Tayini ve SDS-PAGE Elektroforezi: Örneklerdeki total protein miktarı 750 nm'de Lowry metoduna göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Lowry vd., 1951). Enzimlerin moleküler ağırlıklarını belirlemek için SDS-PAGE jel sistemi kullanılmıştır. Jel gümüş boyama tekniği kullanılarak boyanmıştır (Lelong vd., 2009).

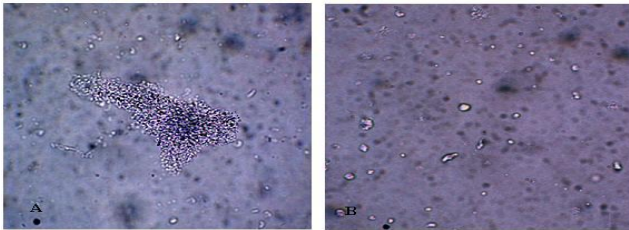
Protoplast Oluşumu: Protoplast oluşumu için Streptomyces suşlarının sporlarından YMB besiyerine ekim yapılmıştır. 24 saat 30°C' de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda Streptomyces kültürü 8000 rpm de 15 dk santifüj edilip pellet %10,3'lük sakkaroz çözeltisiyle 2

kez yıkanmıştır. Son yıkamadan sonra pellet mililitresinde 4 mg lizozim bulunan 20 mL P3 tamponunda 30 °C'de 2 saat inkübasyona bırakılmış ve bu süre içinde belirli aralıklarla küçük örnekler alınıp mikroskopta protoplast oluşumu izlenmiştir. Protoplast oluşumundan sonra süspansiyon 1500 rpm'de 5 dk santifüj edilmiştir. Pellete 20 mL PWP tamponu eklenerek protoplastlaşma durdurulmuştur. Protoplast süspansiyonunda kalan misel parçaları cam yününden süzlmüştür. Misel parçalarından arındırılmış protoplast süspansiyonu elde edilmiştir (Shirahama vd., 1981; Lampel ve Strohl, 1986)'dan modifiye edilmiştir.

Protoplast Füzyonu: S40, S47, S48 suşlarından elde edilen protoplastlar arasında protoplast fusion denemeleri yapılmıştır. İki suştan elde edilen protoplast süspansiyonlarından 50 şer µL alındı ve 900 µL PWP tamponuyla hazırlanmış %40'lık polyethylene glycol 6000 (PEG) karıştırılmıştır. 5 dk sonra PEG 6000 ile işlenmiş protoplastlar sıvı CRM besiyelerinde seri sulandırmalar yapılarak katı CRM, R5 ve S27M besiyelerine aktarıldı 30°C'de 15-18 gün inkübasyona bırakılmıştır (Gold vd., 1983; Baltz, 1978)'den modifiye edilmiştir.

BULGULAR

Çalışmamızda protoplast oluşumu gerçekleştirilecek organizmalar (S40, S47 ve S48) %1 glisin içeren YMB besiyerinde 24 saat geliştirilmiştir. Bu besiyerinde *Streptomyces* suşlarının zayıf hif oluşumu gösterdiği gözlemlenmiştir. Santifüj edilip çöktürülen hifler protoplast oluşumu için 4mg/mL lizozim içeren 20 mL P3 tamponunda 30 °C 2 h inkübe edilip mikroskopta 40X'de incelendiğinde Şekil 1. A'daki görünüm elde edilmiştir. Şekil 1. A'da görüldüğü gibi lizozimle işlenen hiflerden protoplast oluşumu başlamıştır.

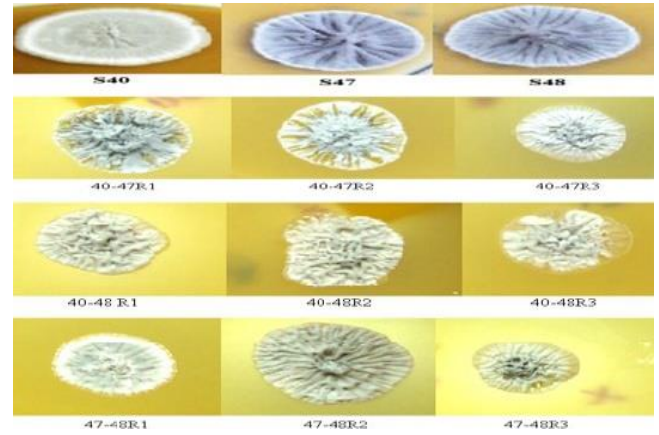


Şekil 1. A: 24 saat YMB besiyerinde inkübe edilen *Streptomyces* suşlarının 2h lizozimle işlenmesi sonucu oluşan protoplastların görüntüsü, B: Cam yününden geçirilerek hiflerden arındırılmış protoplast görüntüsü.

Figure 1. A: Protoplast image occurred after with treating lysozyme for 2 h of *Streptomyces* strains incubated in YMB for 24 hours, B: Protoplast image free from hyphae through glass wool.

Pigac ve Schrempf (1995) yaptıkları çalışmada *Streptomyces* suşları glisin içeren besiyerinde geliştirildiğinde lizozimin (hücre duvarını parçalayan ajan) etkinliğini artırdığını belirtmişlerdir. Protoplast oluşumu gerçekleştikten sonra protoplast süspansiyonundan hifleri uzaklaştırmak için cam yününden süzme işlemi

gerçekleştirilmiştir. Şekil 1.B'de gösterildiği gibi cam yününden süzldüğünde hiflerin ortamdan uzaklaştığı sadece protoplastların kaldığı gözlemlenmiştir. Protoplast oluşumdaki tüm aşamaların aseptik koşullarda gerçekleştirilmesi gereklidir. S40 ve S47, S40 ve S48, S47 ve S48 suşları arasında gerçekleştirilen protoplast füzyon çalışması için bu suşlardan oluşturulan protoplastlar PEG solüsyonuyla karıştırılmıştır. Protoplast oluşumu için 5 dk beklenmiştir. Sonra regenerasyon besiyelerine aktarılmıştır. Rejenerasyon besiyerinden ana suşlardan farklı koloni morfolojileri gösteren (Şekil 2) suşlar seçilmiş ve bu suşların ksilanaz aktiviteleri değerlendirilmiştir.



Şekil 2. Ebeveyn ve rekombinat suşların koloni morfolojileri.

Figure 2. Colony morphology of parent and recombinant strains.

S40, S47, S48 Suşunun Günlük Ksilanaz Enzim

Aktivite Sonuçları: S40, S47, S48 suşlarının 7.gün sonundaki ksilanaz aktivitesi sırasıyla 50,92 U/mL, 49,51 U/mL, 47,79 U/mL olarak bulunmuştur (Tablo 1) En aktif suş 40S suşudur. Rıfaat vd., (2006) substrat olarak pirinç samanı hamuru kullandığında *Streptomyces albus* suşunda ksilanaz aktivitesi 13,25 U/mL *Streptomyces chromofuscus* suşunda 19,31 U/mL olduğu bulunmuştur. Pirinç samanı hamuru TiO₂ ile işlendiğinde ise bu suşların ksilanaz aktivitesi sırasıyla 32,53 U/mL ve 43,01 U/mL olarak hesaplanmıştır. Nascimento vd., (2002) en yüksek ksilanaz aktivitesini (70 U/mL) substrat olarak larchwood ksilan kullandığında elde etmiştir. Substrat olarak buğday kepeği kullandığında ise aynı suşun ksilanaz aktivitesi 28,4 U/mL olarak saptamışlardır. Bhosale vd., (2011) *Streptomyces rameus* suşunun substrat olarak şeker kamışı kullandığında ksilanaz aktivitesi 185 U/mL, mısır koçanı kullanıldığında ise 64 U/mL olduğunu bulunmuştur. Techapun vd., (2003) ise *Streptomyces lividans* suşunun maximum ksilanaz aktivitesi 41.6 U/mL olduğunu saptamıştır. Ding vd., (2004) tarafından *Streptomyces olivaceoviridis* suşunun %1,5 Tween-80 eklenmiş ksilanlı besi ortamındaki en yüksek ksilanaz aktivitesinin 1653 U/mL olduğu saptanmıştır. Nadia vd., (2010) *Streptomyces lividans* (NRC) suşunun substrat olarak domates posası kullanıldığında maximum ksilanaz aktivitesinin 1447 U/mL olduğunu saptamışlardır.

Tablo 1. S40, S47, S48 suşlarının günlük ksilanaz aktivite sonuçları.

Günlük ksilanaz aktivitesi(U/mL)	S40	S47	S48
1.gün	9,27	8,39	7,51
2. gün	18,93	18,39	16,36
3.gün	27,01	26,50	24,09
4.gün	33,67	33,07	34,37
5.gün	42,51	42,08	44,58
6.gün	47,37	46,06	45,36
7.gün	50,92	49,51	47,79

Protoplast Füzyonu Sonucu Oluşan Rekombinant Suşlarının Günlük Ksilanaz Aktivite Sonuçları: S40, S47, S48 ebeveyn suşlarının 7. gün sonundaki ksilanaz aktivitesi sırasıyla 50,92 U/mL, 49,51 U/mL, 47,79 U/mL olarak bulunmuştur. Yüksek ksilanaz aktivitesi gösteren bu suşlar arasında denenen füzyon çalışması sonucu farklı koloni

morfolojisi gösteren 9 suşdan 7 gün sonunda Tablo 2.'de gösterilen sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek ksilanaz aktivitesi (47-48) R3 rekombinant suşu göstermektedir. Teeradakorn vd., (1998) *Streptomyces cyaneus* 190-1 ve *Streptomyces griseoruber* 42-9 suşları arasındaki protoplast füzyon sonucu oluşan *Streptomyces* D3 rekombinat suşunun ksilanaz aktiviteleri incelenmiş 1200 U/L ksilanaz aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir. Abdel-Aziz vd., (2011) yaptıkları çalışmada *Streptomyces pseudogriseolus* suşların sporlarına farklı zaman aralıklarında U.V ışığına maruz bıraktığında oluşan mutant suşlar seçmiş ve mutantların ebeveyn türe göre ksilanaz aktivitelerindeki değişim incelenmiştir. 121 nolu mutantın ebeveyn suşa göre %62,5 daha yüksek ksilanaz aktivitesi gösterdiği bulunmuştur.

Tablo 2. Protoplast füzyonu sonucu oluşan rekombinantların günlük ksilanaz aktivite sonuçları.

Günlük ksilanaz Aktivitesi (U/mL)	(40-47)R1	(40-47)R2	(40-47)R3	(40-48)R1	(40-48)R2	(40-48)R3	(47-48)R1	(47-48)R2	(47-48)R3
1.gün	9,02	10,90	11,03	9,68	12,84	11,27	7,15	7,08	14,05
2.gün	17,65	20,66	20,41	15,17	24,23	21,64	12,84	13,49	27,44
3.gün	26,71	29,17	28,61	23,56	34,51	29,58	17,25	21,06	38,07
4.gün	32,69	39,75	38,98	33,67	44,30	39,23	24,63	27,79	47,06
5.gün	38,91	44,84	43,77	40,20	50,15	48,91	32,67	34,09	54,65
6.gün	42,01	49,12	49,66	43,49	56,39	52,20	35,83	37,58	60,29
7.gün	46,67	53,23	54,40	46,31	60,20	56,36	36,46	39,17	63,04

Tablo 3. S40 ve S47 ebeveyn suşlarla protoplast füzyon sonucu oluşan rekombinat suşların, ksilanaz aktiviteleri ve yüzde verimliliklerinin karşılaştırılması.**Table 3.** Comparison of S40 and S47 parental strains with xylanase activities and percent efficiency of recombinant strains resulting from protoplast fusion.

Ebeveyn ve rekombinant suşlar	Protein konsantrasyonu	7 gün sonundaki ksilanaz aktivitesi (U/mL)	Yüzde verimlilik
S40	5,60833	50,92	102,8
S47	5,11818	49,51	100
R1(40-47)	5,97273	46,67	94,2
R2(40-47)	7,88182	53,23	107,5
R3(40-47)	4,46364	54,40	109,8

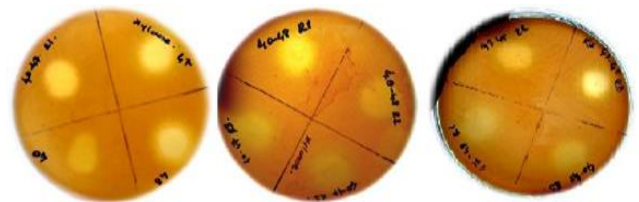
Tablo 4. S40 ve S48 ebeveyn suşlarla protoplast füzyon sonucu oluşan rekombinat suşların, ksilanaz aktiviteleri ve yüzde verimliliklerinin karşılaştırılması.**Table 4.** Comparison of xylanase activities and percent efficiency of S40 and S48 parent strains and recombinant strains resulting from protoplast fusion.

Ebeveyn ve rekombinant suşlar	Protein konsantrasyonu	7 gün sonundaki ksilanaz aktivitesi (U/mL)	Yüzde verimlilik
S40	5,60833	50,92	106,5
S48	5,22272	47,79	100
R1(40-48)	5,46364	46,31	94,2
R2(40-48)	7,01818	60,20	125,9
R3(40-48)	6,72727	56,36	117,9

Tablo 5. S47 ve S48 ebeveyn suşlarla protoplast füzyon sonucu oluşan rekombinat suşların, ksilanaz aktiviteleri ve yüzde verimliliklerinin karşılaştırılması.**Table 5.** Comparison of xylanase activities and percent efficiency of S47 and S48 parent strains and recombinant strains resulting from protoplast fusion.

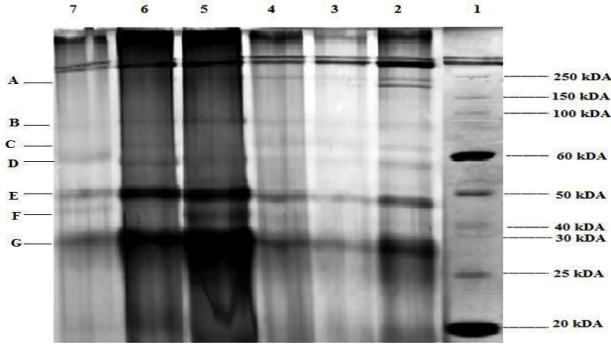
Ebeveyn ve rekombinant suşlar	Protein konsantrasyonu	7 gün sonundaki ksilanaz aktivitesi (U/mL)	Yüzde verimlilik
S47	5,11818	49,51	103,5
S48	5,22272	47,79	100
R1(47-48)	2,70000	36,46	76,2
R2(47-48)	2,83636	39,17	81,9
R3(47-48)	7,35455	56,36	131,9

Ebeveyn ve Rekombinat Suşlardan Kısmi Saflaştırılmış Ksilanaz Enziminin Katı Besiyerindeki Aktivite Sonucu: S40, S47, S48 ebeveyn suşlarından ve protoplast füzyon denemesi sonucu elde edilen 40-47R1, 40-47R2, 40-47R3, 40-48R1, 40-48R2, 40-48R3, 47-48R1, 47-48R2, 47-48R3 suşlarından kısmi saflaştırma yöntemiyle elde edilen ksilanaz enziminin ksilan içeren katı besiyerindeki aktivite sonucu şekil 3'de görülmektedir. 100 µL ksilanaz enziminin 1 saatlik inkübasyon sonucu oluşturduğu aktivite parlak ve sarı renkte görülürken, parçalanmamış ksilanlı bölgeler kırmızı renkte görülmektedir.

**Şekil 3.** Kısmi saflaştırma yöntemiyle elde edilen ksilanaz enziminin katı besiyerinde aktivite görünümü.**Figure 3.** Activity view of xylanase enzyme obtained by partial purification method on solid medium.

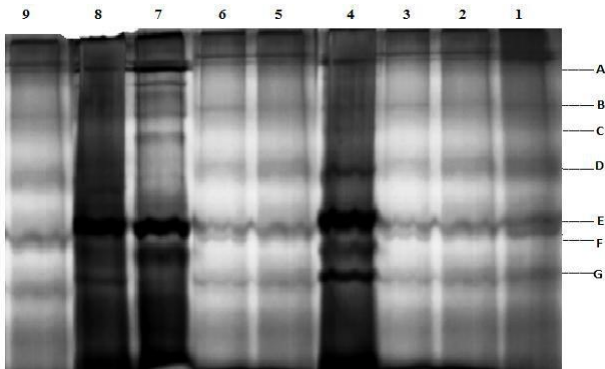
Ebeveyn ve Rekombinant Suşlardan Kısmi Saflaştırılmış Ksilanaz Enziminin SDS-PAGE Analiz Bulguları: Elektroferez çalışması sonucu Şekil 4'de A,B,C,D,E,F,G olarak gösterilen bantların moleküler ağırlıkları sırasıyla 220,5 kDA, 84,8 kDA, 64,5 kDA, 56 kDA, 48,2 kDA, 41,2 kDA, 28, 76 kDA olarak saptanmıştır. S40, S47 ve S48 suşlarından kısmi

saflaştırılan enzimler hem şekil 4. hemde şekil 5'deki jellerde yürütüldüğünden şekil 4'deki bantlar ve şekil 5'deki bantlarla aynıdır. Şekil 5'de A,B,C,D,E,F,G olarak gösterilen bantların moleküler ağırlıkları sırasıyla 220,5 kDA, 84,8 kDA, 64,5 kDA, 56 kDA, 48,2 kDA, 41,2 kDA, 28, 76 kDA ağırlığındadır.



Şekil 4. S40, S47, S48 ve (40-47)R1, (40-47)R2, (40-47) R3 Suşlarından Kısmi Saflaştırılmış Ksilanaz Enziminin SDS-PAGE Analizi (1: Markır, 2: S40, 3: S47, 4: S48, 5: (40-47)R3, 6: (40-47)R2, 7: (40-47)R1).

Figure 4. SDS-PAGE Analysis of Partially Purified Xylanase Enzyme from Strains S40, S47, S48 and (40-47) R1, (40-47) R2, (40-47) R3 (1: Marker, 2: S40, 3: S47, 4: S48, 5: (40-47) R3, 6: (40-47) R2, 7: (40-47) R1).



Şekil 5. S40, S47, S48 ve (47-48)R3, (47-48)R2, (47-48)R1, (40-48)R3, (40-48)R2, (40-48)R1 Suşlarından Kısmi Saflaştırılmış Ksilanaz Enziminin SDS-PAGE Analizi (1: S40, 2: S47, 3: S48, 4: (47-48)R3, 5: (47-48)R2, 6: (47-48)R1, 7: (40-48)R3, 8: (40-48)R2, 9: (40-48)R1).

Figure 5. S40, S47, S48 and (47-48) R3, (47-48) R2, (47-48) R1, (40-48) R3, (40-48) R2, (40-48) R1 SDS-PAGE Analysis of Partially Purified Xylanase Enzyme from Strains (1: S40, 2: S47, 3: S48, 4: (47-48) R3, 5: (47-48) R2, 6: (47-48) R1, 7: (40-48) R3, 8: (40-48) R2, 9: (40-48) R1).

Streptomyces sp. CD3 suşlarından izole edilen ksilanaz enzimlerinin zimogram analizleri sonucu 69,18 kDA, 63,09 kDA, 43,65 kDA moleküler ağırlığında üç bantın varlığı gösterilmiştir. Bu organizmanın farklı moleküler ağırlıklara sahip ksilanaz enzimleri ürettiği bulunmuştur (Sharma ve Bajaj, 2005). *Streptomyces chartreusis* suşundan izole edilen ksilanaz enzimi SDS-PAGE yöntemiyle analiz edildiğinde 31,6 kDA moleküler ağırlığında olduğu saptanmıştır (Li vd., 2011). *Bacillus* sp. X-13 suşundan izole edilen ksilanaz enziminin, moleküler ağırlıkları 180,4 kDA, 95,5 kDA, 80,6 kDA, 68,5 kDA olan

dört alt birimden meydana geldiği zimogram analizi sonucu saptanmıştır (Aygan, 2008). *Streptomyces* sp. AMT-3 suşundan izole edilen ksilanaz enziminin zimogram analizi sonucu 240 kDA, 170 kDA iki bant ve 600 kDa üstünde iki bant olmak üzere 4 bant tespit edilmiştir.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Ksilanaz aktivitesi, araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçların bir araya getirildiği tablo 1 incelendiğinde ebeveyn olarak kullandığımız 3 suştan S40 suşunun en yüksek ksilanaz aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Ancak bu suşlar arasında yapılan füzyon uygulamaları sonunda ortaya çıkan suşlardan rastgele seçilmiş olanlar arasında yaptığımız karşılaştırmalı ksilanaz aktivite çalışmalarında 40-48 rekombinantlarından olan R2 suşu ve 47-48 rekombinantlarından R3 suşunun birbirine yakın duracak şekilde en yüksek ksilanaz aktivite gösteren rekombinantlar olduğu görülmüştür (Tablo2). Bu suşlara ait kısmi saflaştırılmış enzimlerin protein içerikleri incelendiğinde 40-47 kombinasyonunun sonucu olarak ortaya çıkan rekombinantlardan R3 suşunun en yüksek ksilanaz verimliliğe sahip olduğu ancak saf protein miktarı bakımından da aynı ebeveynlerin R2 rekombinantlarının en yüksek değer taşıdığı görülmektedir. Bu demektir ki bu suşların ürettikleri enzimler farklı ksilanaz aktivitesi taşımakta ve saf protein miktarı yüksekliğinin aktivite yüksekliği anlamına gelmediği anlaşılmaktadır. Tablo 3 ve tablo 4 birlikte incelendiklerinde 40-48 ebeveyninden elde edilen rekombinant suşlar arasında 40-47 rekombinantlarına kıyasla daha verimli ksilanaz enzim ürettikleri açıkça görülmektedir. Tablo 4 incelendiğinde her ne kadar S48 ebeveyn suşunun tüm testlerin sonucuna bakarak en düşük ksilanaz aktivitesi gösteren bir suş olmasına karşılık ondan bu özellik bakımından hiçte fazla aktivite göstermeyen S40 ebeveyn suşuyla füzyonu sonucu oluşan R2 rekombinasyonunun gerek protein konsantrasyonu gerek ksilanaz aktivitesi ve gereksede verimlilik açısından en üst düzeyde başarılı olduğunu belirledik. S47 ve S48 suşlarının ebeveyn olarak kullanıldığı testlerde tek başlarına birbirlerine yakın ksilanaz aktivitesi göstermelerine karşılık 47-48 füzyonunun rekombinantı olarak seçtiğimiz R3 suşunda tüm kriterlerde ve tüm suşlar arasında yapılan karşılaştırma çerçevesinde en başarılı suş olduğu ve yüzde verimliliğin aktivite ve protein konsantrasyonu dikkate alındığında % 131 gibi en üst düzeyde olduğu açıkça görülmektedir. Sonuç olarak, protoplast füzyonu uygulamasında bakterilerin hücre duvarlarının parçalanmasıyla oluşan protoplastlar kaynaştığında genomlarının rastgele homolog rekombinasyonu sonucu oluşan rekombinant türlerde

selüloz ve ksilanaz gibi enzimleri kodlayan genlerin aktivitesini geliştirebilirler.

TEŞEKKÜRLER

FEF2009D20 proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

^[*]*Streptomyces* suşlarında farklı genetik manipülasyonların antibiyotik ve enzim üretimi yönünden başarı düzeyinin araştırılması isimli doktora tezinden üretilmiş makaledir.

KAYNAKLAR

- Abdel-Aziz, M.S., Talkhan, F.N., Fadel, M., AbouZied, A.A. & Abdel-Razik, A.S. (2011). Improvement of xylanase production from *Streptomyces pseudogriseolus* via UV mutagenesis. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(5), 1045-1050.
- Antonopoulos, V., Hernandez, M., Arias, M., Mavrakos, E. & Ball, A. (2001). The use of extracellular enzymes from *Streptomyces albus* ATCC 3005 for the bleaching of eucalyptus kraft pulp. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57(1-2), 92-97. DOI: [10.1007/s002530100740](https://doi.org/10.1007/s002530100740)
- Aretz, W., Koller, K.P. & Riess, G. (1989). Proteolytic enzymes from recombinant *Streptomyces lividans* TK24. *FEMS Microbiology Letters*, 65(1-2), 31-35. DOI: [10.1016/0378-1097\(89\)90361-3](https://doi.org/10.1016/0378-1097(89)90361-3).
- Aygan, A. (2008). *Halofilik Bacillus sp. izolasyonu, amilaz selüloz ve ksilanaz enzimlerinin üretimi, karakterizasyonu ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilirliği*. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Adana, Türkiye. 186s.
- Bailey, M.J., Biely, P. & Poutanen, K. (1992). Interlaboratory testing of methods for assay of xylanase activity. *Journal of Biotechnology*, 23(3), 257-270. DOI: [10.1016/0168-1656\(92\)90074-J](https://doi.org/10.1016/0168-1656(92)90074-J).
- Bajaj, B.K., Razdan, K. & Sharma, A. (2010). Thermoactive alkali-stable xylanase production from a newly isolated *Streptomyces sp. SU 9*. *Indian Journal of Chemical Technology*, 17, 375-380.
- Baltz, R.H. (1978). Genetic recombination in *Streptomyces fradiae* by protoplast fusion and cell regeneration. *Microbiology*, 107(1), 93-102. DOI: [10.1099/00221287-107-1-93](https://doi.org/10.1099/00221287-107-1-93)
- Bandlish, R.K., Michael Hess, J., Epting, K.L., Vieille, C. & Kelly, R.M. (2002). Glucose-to-fructose conversion at high temperatures with xylose (glucose) isomerases from *Streptomyces murinus* and two hyperthermophilic Thermotoga species. *Biotechnology and Bioengineering*, 80(2), 185-194. DOI: [10.1002/bit.10362](https://doi.org/10.1002/bit.10362)
- Bhosale, H.J., Sukalkar, S.R., Uzma, S.M.Z. & Kadam, T.A. (2011). Production of xylanase by *Streptomyces rameus* grown on agricultural wastes. *Biotechnol Bioinf Bioeng*, 1(4), 505-512.
- Chun, J., Youn, H.D., Yim, Y.I., Lee, H., Kim, M.Y., Hah, Y.C., & Kang, S.O. (1997). *Streptomyces seoulensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 47(2), 492-498. DOI: [10.1099/00207713-47-2-492](https://doi.org/10.1099/00207713-47-2-492)
- Crawford, D.L., Lynch, J.M., Whipps, J.M. & Ousley, M.A. (1993). Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. *Applied Environmental Microbiology*. 59(11), 3899-3905. DOI: [10.1128/AEM.59.11.3899-3905.1993](https://doi.org/10.1128/AEM.59.11.3899-3905.1993)
- Ding, C.H., Jiang, Z.Q., Li, X.T., Li, L.T. & Kusakabe, I. (2004). High activity xylanase production by *Streptomyces olivaceoviridis* E-86. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(1), 7-10. DOI: [10.1023/B:WIBI.0000013278.24679.ed](https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000013278.24679.ed)
- Gold, M.H., Cheng, T.M. & Alic, M. (1983). Formation, fusion, and regeneration of protoplasts from wild-type and auxotrophic strains of the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(1), 260-263. DOI: [10.1128/AEM.46.1.260-263.1983](https://doi.org/10.1128/AEM.46.1.260-263.1983)
- Kaneko, T., Saito, K., Kawamura, Y. & Takahashi, S. (2001). Molecular cloning of acid-stable glucose isomerase gene from *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 by a simple two-step PCR method, and its expression in *Escherichia coli*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(5), 1054-1062. DOI: [10.1271/bbb.65.1054](https://doi.org/10.1271/bbb.65.1054)
- Kansoh, A.L. & Nagieb, Z.A. (2004). Xylanase and mannanase enzymes from *Streptomyces galbus* NR and their use in biobleaching of softwood kraft pulp. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 85(2), 103-114. DOI: [10.1023/B:ANTO.0000020281.73208.62](https://doi.org/10.1023/B:ANTO.0000020281.73208.62)
- Kieser, T., Bibb, M.J., Buttner, M.J., Chater, K F. & Hopwood, D.A. (2000). *Practical streptomyces genetics* (Vol. 291). Norwich: John Innes Foundation. Norwich, UK, 613p.
- Lampel, J.S. & Strohl, W.R. (1986). Transformation and transfection of anthracycline-producing streptomycetes. *Applied Environmental Microbiology*, 51(1), 126-131. DOI: [10.1128/AEM.51.1.126-131.1986](https://doi.org/10.1128/AEM.51.1.126-131.1986)
- Lelong, C., Chevallet, M., Luche, S. & Rabilloud, T. (2009). *Silver staining of proteins in 2DE gels. Two-Dimensional Electrophoresis protocols* (ss. 339-350). Humana Press. DOI: [10.1007/978-1-59745-281-6_21](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-281-6_21)
- Li, W., Lanoot, B., Zhang, Y., Vancanneyt, M., Swings, J. & Liu, Z. (2002). *Streptomyces scopiformis* sp. nov., a novel streptomycete with fastigiate spore chains.

- International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **52**(5), 1629-1633. DOI: [10.1099/00207713-52-5-1629](https://doi.org/10.1099/00207713-52-5-1629)
- Li, X., Sun, B., Zhao, J., Lv, Y., Song, H., Li, E. & Zhu, Y. (2011).** Production and improved bleaching abilities of a thermostable xylanase from a newly isolated *Streptomyces chartreusis* strain. *African Journal of Biotechnology*, **10**(64), 14132-14142. DOI: [10.5897/AJB10.2360](https://doi.org/10.5897/AJB10.2360)
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. & Randall, R.J. (1951).** Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265-275.
- Meyers, P. R., Porter, D.S., Omorogie, C., Pule, J.M., & Kwetane, T. (2003).** *Streptomyces speibonae* sp. nov., a novel streptomycete with blue substrate mycelium isolated from South African soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **53**(3), 801-805. DOI: [10.1099/ijs.0.02341-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.02341-0)
- Nadia, H., El-Nassar, A., Amal, M.A. & Abeer, A.K. (2010).** Xylanase production by *Streptomyces lividans* (NRC) and its application on waste paper. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **4**(6), 1358-1368.
- Nascimento, R.P., Coelho, R.R.R., Marques, S., Alves, L., Grió, F.M., Bon, E.P.S. & Amaral-Collaco, M.T. (2002).** Production and partial characterisation of xylanase from *Streptomyces* sp. strain AMT-3 isolated from Brazilian cerrado soil. *Enzyme and Microbial Technology*, **31**(4), 549-555. DOI: [10.1016/S0141-0229\(02\)00150-3](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00150-3)
- Pigac, J. & Schrempf, H. (1995).** A Simple and Rapid Method of Transformation of *Streptomyces rimosus* R6 and Other Streptomycetes by Electroporation. *Applied Environmental Microbiology*, **61**(1), 352-356. DOI: [10.1128/AEM.61.1.352-356.1995](https://doi.org/10.1128/AEM.61.1.352-356.1995)
- Raykovska, V., Dolashka-Angelova, P., Paskaleva, D., Stoeva, S., Abashev, J., Kirkov, L. & Voelter, W. (2001).** Isolation and characterization of a xylose-glucose isomerase from a new strain *Streptomyces thermovulgaris* 127, var. 7-86. *Biochemistry and Cell Biology*, **79**(2), 195-205. DOI: [10.1139/o00-100](https://doi.org/10.1139/o00-100)
- Rifaat, H.M., Nagieb, Z.A., & Ahmed, Y.M., (2006).** Production of xylanases by *Streptomyces* species and their bleaching effect on rice straw pulp. *Applied Ecology and Environmental Research*, **4**(1), 151-160. DOI: [10.15666/aer/0401_151160](https://doi.org/10.15666/aer/0401_151160)
- Sharma, P. & Bajaj, B.K. (2005).** Production and partial characterization of alkali-tolerant xylanase from an alkalophilic *Streptomyces* sp. CD3. *Journal of Scientific & Industrial Research*. **64**, 688-697.
- Shirahama, T., Furumai, T. & Okanishi, M. (1981).** A modified regeneration method for streptomycete protoplasts. *Agricultural and Biological Chemistry*, **45**(5), 1271-1273. DOI: [10.1080/00021369.1981.10864691](https://doi.org/10.1080/00021369.1981.10864691)
- Sommer, P., Bormann, C. & Götz, F. (1997).** Genetic and biochemical characterization of a new extracellular lipase from *Streptomyces cinnamomeus*. *Applied Environmental Microbiology*, **63**(9), 3553-3560. DOI: [10.1128/AEM.63.9.3553-3560.1997](https://doi.org/10.1128/AEM.63.9.3553-3560.1997)
- Teeradakorn, S., Talawanich, Y., Suzuki, I., Pinphanichakarn, P., Fujiyama, K., Sekiand, T. & Yoshida, T. (1998).** Characterization of *Streptomyces* D3 derived from protoplast fusion between *Streptomyces cyaneus* 190-1 and *Streptomyces griseoruber* 42-9. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **14**(4), 565-570. DOI: [10.1023/A:1008841626968](https://doi.org/10.1023/A:1008841626968)
- Techapun, C., Poosaran, N., Watanabe, M. & Sasaki, K. (2003).** Thermostable and alkaline-tolerant microbial cellulase-free xylanases produced from agricultural wastes and the properties required for use in pulp bleaching bioprocesses: a review. *Process Biochemistry*, **38**(9), 1327-1340. DOI: [10.1016/S0032-9592\(02\)00331-X](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(02)00331-X)
- Trigo, C. & Ball, A.S. (1994).** Is the solubilized product from the degradation of lignocellulose by actinomycetes a precursor of humic substances. *Microbiology*, **140**(11), 3145-3152. DOI: [10.1099/13500872-140-11-3145](https://doi.org/10.1099/13500872-140-11-3145)
- Wang, S.L., Yen, Y.H., Shih, L., Chang, A.C., Chang, W.T., Wu, W.C. & Chai, Y.D. (2003).** Production of xylanases from rice bran by *Streptomyces actuosus* A-151. *Enzyme and Microbial Technology*, **33**(7), 917-925. DOI: [10.1016/s0141-0229\(03\)00246-1](https://doi.org/10.1016/s0141-0229(03)00246-1)
- Vigal, T., Martin, J.F. & Gil, J.A. (1994).** Expression of the *Streptomyces griseus* α -amylase gene in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiology Letters*, **118**(3), 259-263. DOI: [10.1111/j.1574-6968.1994.tb06838.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb06838.x)
- Vujaklija, D., Schröder, W., Abramić, M., Zou, P., Lešćić, I., Franke, P. & Pigac, J. (2002).** A novel streptomycete lipase: cloning, sequencing and high-level expression of the *Streptomyces rimosus* GDS (L)-lipase gene. *Archives of Microbiology*, **178**(2), 124-130. DOI: [10.1007/s00203-002-0430-6](https://doi.org/10.1007/s00203-002-0430-6)
- Zhang, Q., Li, W.J., Cui, X.L., Li, M.G., Xu, L.H. & Jiang, C. L., (2003).** *Streptomyces yunnanensis* sp. nov., a mesophile from soils in Yunnan, China. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **53**(1), 217-221. DOI: [10.1099/ijs.0.01851-0](https://doi.org/10.1099/ijs.0.01851-0)



In Vitro Anti-*Helicobacter pylori* and Antimycobacterial Activity Evaluation of Selected Plants From Turkey

Ayşe Esra KARADAĞ* Ayşegül ÇAŞKURLU Fatma TOSUN
Istanbul Medipol University, School of Pharmacy, Department of Pharmacognosy, Istanbul, Turkey

Geliş/Received: 14.02.2020

Kabul/Accepted: 05.06.2020

How to cite: Karadağ, A.E., Çaşkurlu, A. & Tosun, F. (2020). In Vitro Anti-*Helicobacter pylori* and Antimycobacterial Activity Evaluation of Selected Plants From Turkey. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 231-235.

Atf yapmak için: Karadağ, A.E., Çaşkurlu, A. & Tosun, F. (2020). Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Bitkilerin *In Vitro* Anti-*Helikobakter pilori* ve Antimikobakteriyel Aktivitesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 231-235.

*ID: <https://orcid.org/0000-0002-3412-0807>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-7277-920X>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-2533-5141>

***Corresponding author’s:**

Ayşe Esra KARADAĞ
Istanbul Medipol University, School of
Pharmacy, Department of Pharmacognosy,
Istanbul, Turkey
✉: ayseesraguler@gmail.com
Telephone : +90 (216) 681 51 00
Fax : +90 (212) 521 23 77

Abstract: In this study, the extracts of *Ulmus minor* Mill. subsp. *minor* (Ulmaceae), *Lathyrus pratensis* L. (Leguminosae), *Glaucium leiocarpum* Bois. (Papaveraceae), and *Echium vulgare* L. (Boraginaceae) were investigated for their *in vitro* anti-*Helicobacter pylori* and anti-mycobacterial activity.

The air-dried plant material was powdered and extracted with 70% ethanol by maceration. The extract was filtered and evaporated to dryness under the vacuum and then dissolved in a water-ethanol (90:10) mixture and extracted with dichloromethane and ethyl acetate, respectively. Antibacterial activity was investigated by microdilution method against *Helicobacter pylori* ATCC 43504, *Mycolicibacterium smegmatis* ATCC 14468 and *Mycobacterium avium* ATCC 25291.

The ethyl acetate extract of *U. minor* showed activity with MIC of 250 µg / mL against *H. pylori*. The other extracts showed no or weak inhibitory activity at >2000 µg/mL concentrations against the tested microorganisms. In conclusion, ethyl acetate extract of *U. minor* may be used for the treatment of *H. pylori* infections.

Keywords: *Echium*, *Glaucium*, *Helicobacter pylori*, *Lathyrus*, *Mycobacterium*, *Ulmus*.

Türkiye’de Yetiştirilen Bazı Bitkilerin *In Vitro* Anti-*Helikobakter pilori* ve Antimikobakteriyel Aktivitesi

Öz: Bu çalışmada, *Ulmus minor* Mill. subsp. *minor* (Ulmaceae), *Lathyrus pratensis* L. (Leguminosae), *Glaucium leiocarpum* Bois. (Papaveraceae) ve *Echium vulgare* L. (Boraginaceae) ekstralarının antihelikobakter pilori ve antimikobakter aktiviteyi *in vitro* olarak incelenmiştir. Kurutulmuş bitki materyalleri toz edildikten sonra %70’lik etanolle masere edilmiştir. Ekstreler süzülerek vakum altında yoğunlaştırıldıktan sonra su-etanol (90:10) karışımında çözülerek sırasıyla diklorometan ve etilasetat ile alt ekstreleri hazırlanmıştır. Antibakteriyel aktivitesi *in vitro* broth mikrodilüsyon yöntemi ile *Helicobacter pylori* ATCC 43504, *Mycolicibacterium smegmatis* ATCC 14468 ve *Mycobacterium avium* ATCC 25291’a karşı araştırılmıştır. *U. minor*’un etilasetat ekstresinin MİK değeri *H. pilori*’ye karşı 250 µg/mL olarak kaydedilmiştir. Test edilen konsantrasyonlarda (2000 µg/mL) diğer ekstreler belirgin bir MİK değeri göstermemiştir. Sonuç olarak *U. minor* yapraklarının etilasetat ekstresinin *H. pilori* enfeksiyonlarında tedavi edici olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Echium*, *Glaucium*, *Helikobakter pilori*, *Lathyrus*, *Mikobakter*, *Ulmus*.

***Sorumlu yazar:**

Ayşe Esra KARADAĞ
Istanbul Medipol Üniversitesi, Eczacılık
Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı,
Istanbul, Türkiye.
✉: ayseesraguler@gmail.com
Telefon : +90 (216) 460 77 77
Fax : +90 (212) 521 23 77

INTRODUCTION

Mycobacterium species can be found in soil, water, dust particles, domestic or wild animals, milk and other nutrients and can be transmitted to humans from the environment. They can be colonized on body surface and secretions. *Mycobacterium avium* complex causes various ailments in humans and animals (Thorel et al., 2001). *Mycobacterium avium* complex contains the factors of *M. avium* subsp. *paratuberculosis*. The agent of *M. paratuberculosis* causes ruminant and other mammal species called Johne disease or paratuberculosis (Biet et al., 2005; Hoop, 2002; Tell et al., 2001). *Mycobacterium smegmatis* is a rapid-growing bacterium and it is used instead of *M. tuberculosis* and *M. leprae* in studies (Bashiri & Baker, 2005).

Ulmus minor Mill. subsp. *minor* belongs to the Ulmaceae family and this family represented by three species in Turkey (Davis, 1982). Also, there are different *Ulmus* species around the world such as, Britain, Japan, Korea, China (Armstrong et al., 1996; Choi et al., 2010). There are no medicinal uses of *U. minor* subsp. *minor* in Turkey. However, the bark of the root and stem of *U. davidiana* var. *japonica* has been used as a traditional Korean medicine. It is used to treat inflammatory disorders and exhibits antioxidant, anticancer, and anti-inflammatory effects (Choi et al., 2010). To treat alopecia; some galls which are found on the branch and stem of the tree are cut and the juice and worms inside the galls are applied to the affected area of the head. The treatment should be repeated for several consecutive day. For scabies; the thin layer under the bark of branches (called 'sirri') is peeled, boiled with water until thick, then applied to the affected part (Yeşilada et al., 1999). Moreover, leaves of *U. minor* are used in veterinary treatment to cure digestion problems of rabbits and ovines in traditional usage in Tuscany (Italy) (Manganelli et al., 2001) *Ulmus* species contain biologically active compounds, such as sesqui-terpenoids, triterpenes and flavonoids (Lee et al., 2008; Zheng et al., 2010).

Lathyrus L. (Fabaceae) genus has more than 160 species and *Lathyrus* species used different uses, such as alimentary, agricultural, industrial, ornamental, and in traditional medicine worldwide (Lee et al., 2008; Zheng et al., 2010). For instance, *L. odoratus* and *L. sativus* are used for agricultural processes in Turkey and *L. pratensis* showed moderate to strong antifungal bioactivity (Arabi & Sardari, 2010). Moreover, in traditional medicine, it is used for different purposes such as analgesic (seed of *L. sativus*), anti-inflammatory (aerial parts of *L. cicera*), and anti-rheumatism (leaf of *L. rotundifolius* Willd. subsp. *miniatus* (Bieb. ex Stev.) Davis) in Turkey (Llorent-Martínez et al., 2017). Additionally, Holbrook et al. stated that many species contain novel amino acids and nitriles that are

toxic. Though the toxicants are present in vegetative parts of the plant, they are more concentrated in the seeds. Lathyrism can be seen in humans and various animals such as horses, cattle, sheepdogs, rabbits, rats and mice (Holbrook et al., 2015).

Glaucium genus represented by 7 species in Turkey (Cullen, 1965). These species are rich in alkaloid content. *Glaucium leiocarpum* Boiss. (Papaveraceae) is widely distributed in Greece, Crete, Iran, Syria, Caucasia and Turkey, mostly on roadsides, stony fields and slopes. *Glaucium* genus' have antimicrobial, antiinflammatory, antitumoral and analgesic activity and potency to cure age-related brain disorders and it is also shown that *Glaucium* species have been used in Iranian and Turkish herbal medicine as laxative, antidiabetic, hypnotic, antifungal and for treatment of dermatitis (Baytop, 1984; Bournine et al., 2013; Hakemi et al., 2017; Morteza-Semnani et al., 2003; Orhan et al., 2004; Soureshjan & Heidari, 2014). *G. leiocarpum* named 'Kuş ekmeği' in Aydınlar Village (Erdemli/Mersin) and it has been used in traditional medicine as soothing, cough suppressant, intestinal softener and for culinary purposes (Eşen, 2008).

Echium vulgare L. (Boraginaceae) is originated in the Mediterranean and naturalized in Africa, South and North America, Canada, Asia (Japan), Europe (United Kingdom, Turkey), New Zeland and Australia (Klemow et al., 2002). *Echium* species contain pyrrolizidine alkaloids, naphthoquinones (such as shikonins). Shikonins exhibit potent antimicrobial, antifungal, anticonvulsive effect and phytotoxic properties and are frequently used as biomedicinals in Eastern medicine (Kelmow et al., 2002; Papageogiou et al., 1999; Parsons et al., 2001; Zhu et al., 2016). Moreover, *E. vulgare* leaves are used against dermatosis to traditionally cure animals in Tuscany (Italy) (Manganelli et al., 2001). Multiple sources recommend that the plant be taken internally as a tea, powder, tincture, or medicinal wine. Moreover, it is known that *E. vulgare* used for treating urinary tract disorders and as an aid in childbirth in North America. Although prolonged internal use of *E. vulgare* may be cause to hepatotoxicity (Klemow et al., 2002).

In this study, antimicrobial activity of the selected four plants against *Helicobacter pylori* and *Mycobacter* strains was investigated to find an alternative and natural solution to the microbial disease such as stomach disorders or *Mycobacter* infections which caused by these microorganisms.

MATERIAL AND METHOD

Collection of plant material: The plant materials of *Lathyrus pratensis* L., *Ulmus minor* Miller ssp. *Minor*

and *Echium vulgare* L. were collected in their flowering periods from Giresun-Şebinkarahisar. *Glaucium leiocarpum* Boiss. were collected from Ankara- Çankaya. Voucher specimens were deposited in the Herbarium of Istanbul Medipol University, School of Pharmacy, Department of Pharmacognosy.

Solvent extraction: The air-dried plant material was powdered and extracted with 70% ethanol by maceration. The extract was filtered and evaporated to dryness under reduced pressure in a rotary evaporator. The concentrated residue dissolved in a water-ethanol (90:10) mixture and then extracted with liquid-liquid extraction by dichloromethane (DCM) and ethyl acetate (EtOAc), respectively (Karadağ & Tosun, 2019; Acet, 2019).

Antimicrobial Activity: The antimicrobial activity was studied using the broth microdilution assay by a modified Clinical and Laboratory Standards Institute protocol (CLSI) (Whitmire & Merrell, 2012). All microorganisms were standardized versus McFarland No: 0.5 in sterile saline (% 0.85) turbidimetrically. The stock solutions of the extracts were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO), and serial dilutions were prepared. Diluted bacterial suspensions were added to each well and then incubated at 37 °C for twenty-four hours.

Helicobacter pylori ATCC 43504 were grown for 24 hours in Brucella broth containing 5% (v/v) horse blood Columbia agar and containing 10% (h/h) fetal bovine serum (FBS) at 37 °C in an anaerobic incubator (5% CO₂). 100 µL of 1:10 diluted and density modulated *H. pylori*'s strain was added to each microplate. The MICs were calculated as the mean of three repetitions, which are reported in Table 1.

Mycobacterium strains were inoculated in Middlebrook 7H11 agar (Sigma Aldrich), and incubated in aerobic conditions at 37 °C for 4-5 days. The microorganism was transferred to the cation doped MHB and incubated for a further five days. Growing cultures were vortexed and allowed to collapse for 30 min. Diluted bacterial suspensions (10⁶ CFU/mL) were added to each well and then allowed to incubate at 37 °C for 5 days. Amoxicillin, clarithromycin and tetracycline were used as positive control and DMSO used as negative control (Karadağ & Tosun, 2019).

RESULTS AND DISCUSSION

Eight extracts were tested against the pathogenic bacteria listed in Table 1. Using a modified micro-broth dilution assay, MIC values of extracts were compared with those of amoxicillin, clarithromycin, and tetracycline. DMSO was used as negative control. 2000-62.5 µg/mL concentration range was studied for determine the MIC value. Among the tested bacteria in this present study, *H.*

pylori was the more sensitive to the *U. minor* EtOAc extract (250 µg/mL), while *Mycobacterium* appeared to be the most resistant (>2000 µg/mL). While a moderate antimicrobial activity was observed in *U. minor* extracts against *H. pylori* strain none of the other extracts showed activity against *Mycobacterium* species in the tested concentrations (i.e., 2 µg / mL).

Table 1. Results of antimicrobial activity determined by microdilution method of samples (µg / mL) and antimicrobials (µg / mL).

Samples	<i>H. pylori</i>	<i>M. smegmatis</i>	<i>M. avium</i>
<i>G. leiocarpum</i> DCM extract	1000	>2000	>2000
<i>G. leiocarpum</i> EtOAc extract	>2000	>2000	>2000
<i>E. vulgare</i> DCM extract	>2000	>2000	>2000
<i>E. vulgare</i> EtOAc extract	>2000	>2000	>2000
<i>U. minor</i> DCM extract	>2000	>2000	>2000
<i>U. minor</i> EtOAc extract	250	>2000	>2000
<i>L. pratensis</i> DCM extract	>2000	>2000	>2000
<i>L. pratensis</i> EtOAc extract	1000	>2000	>2000
Amoxicillin	≤0.125	NE	NE
Clarithromycin	25	64	8
Tetracycline	25	NE	NE

*NE: No effect

Although here are not many antimicrobial activity studies on the plants used in the study, there is a study showing that *G. leiocarpum* has an ethnobotanical use against wound healing (Bulut et al., 2017). However, antimicrobial activity of some secondary metabolites of *E. vulgare* was investigated, but efficacy was not observed at the tested concentrations (solutions of the pure compounds, solved in MeOH, c 1/4 1 mg=ml) against the tested microorganisms (*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*) (Kuruüzüm-Uz et al., 2004). In an antimicrobial activity screening study on *Lathyrus* species, the MIC value of ethyl acetate extract obtained from *L. pratensis* against the *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa* and antifungal activity against *Candida albicans* were calculated as 0.5 mg / mL (Heydari et al., 2019). However, MIC values could not be calculated at the concentrations against the microorganisms used in this study.

CONCLUSION

In previous studies, antimicrobial activity of different extracts of *U. minor* stems and leaves were studied and various MIC values are obtained against *Enterococcus faecalis* and *Salmonella typhi* (Tag et al., 2011) Leaves of *U. minor* is use in veterinary treatment to cure digestion problems of rabbits and ovines in traditional usage in Tuscany (Italy) (Manganelli et al., 2001).

As a result, it can be thought that *U. minor* leaf extracts which are prepared by polar solvent such as methanol, ethanol, water etc. can be used as a supplementary to prevent stomach ulcer caused by *H. pylori*. In addition, this study can be evaluated in future studies to determine active compounds from EtOAc extract of *U. minor* leaves.

REFERENCES

- Acet, T. (2019).** A study on antioxidant properties and antimicrobial activity of various extracts of *Carduus adpressus*. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, **4**(2), 409-413.
- Arabi, Z. & Sardari, S. (2010).** An investigation into the antifungal property of Fabaceae using bioinformatics tools. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, **2**(2), 93.
- Armstrong, J.V. & Sell, P.D. (1996).** A revision of the British elms (*Ulmus* L., Ulmaceae): the historical background. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **120**(1), 39-50.
- Bashiri, G. & Baker, E.N. (2015).** Production of recombinant proteins in *Mycobacterium smegmatis* for structural and functional studies. *Protein Science*, **24**(1), 1-10.
- Baytop, T. (1984).** *Therapy with medicinal plants in Turkey (past and present)*, Publication no 325, Istanbul University, Istanbul, 189p.
- Biet, F., Boschioli, M.L., Thorel, M.F. & Guilloteau, L.A. (2005).** Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* and *Mycobacterium avium*-intracellulare complex (MAC). *Veterinary Research*, **36**(3), 411-436.
- Bournine, L., Bensalem, S., Wauters, J.N., Iguer-Ouada, M., Maiza-Benabdesselam, F., Bedjou, F., Castronovo, V., Bellahcene, A., Tits, M. & Frédérick, M. (2013).** Identification and quantification of the main active anticancer alkaloids from the root of *Glaucium flavum*. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**(12), 23533-23544.
- Bulut, G., Haznedaroğlu, M.Z., Doğan, A., Koyu, H. & Tuzlacı, E. (2017).** An ethnobotanical study of medicinal plants in Acipayam (Denizli-Turkey). *Journal of Herbal Medicine*, **10**, 64-81.
- Choi, S.Y., Lee, S., Choi, W.H., Lee, Y., Jo, Y.O. & Ha, T.Y. (2010).** Isolation and anti-inflammatory activity of Bakuchiol from *Ulmus davidiana* var. *japonica*. *Journal of Medicinal Food*, **13**(4), 1019-1023.
- Cullen, J. (1965).** *Glaucium* Mill. in: Davis P.H. (Ed.) *Flora of Turkey and the East Aegean islands, Vol 1.*, pp. 214-217, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis, P.H. (1982).** *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, University Press, Edinburgh.
- Eşen, B. (2008).** *Aydınlar köyü ve çevresinin (Erdemli/Mersin) etnobotanik özellikleri*, Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü 110s.
- Hakemi-Vala, M., Mehrara, M., Pourramezan, M., Rahimifard, J.A.N., Khoshnood, S. & Heidary, M. (2017).** Comparison the antimicrobial effects of the flowering aerial parts of *Glaucium vitellinum* Boiss. and Buhse and *Gaillonia aucheri* Jaub. and Spach. *Novelty in Biomedicine*, **5**, 24-29.
- Heydari, H., Saltan İşcan, G., Eryılmaz, M., Bahadır Acıkara, Ö., Yılmaz Sariatın, S., Tekin, M. & Çoban, T. (2019).** Antimicrobial and anti-inflammatory activity of some *Lathyrus* L. (Fabaceae) species growing in Turkey. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **16**(2), 240-245.
- Holbrook, T.C., Gilliam, L.L., Stein, F.P., Morgan, S.E., Avery, A.L., Confer, A.W. & Panciera, R.J. (2015).** *Lathyrus hirsutus* (Caley Pea) intoxication in a herd of horses. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **29**(1), 294-298.
- Hoop, R.K. (2002).** *Mycobacterium tuberculosis* infection in a canary (*Serinus canaria* L.) and a blue-fronted Amazon parrot (*Amazona amazona aestiva*). *Avian Diseases*, **46**(2), 502-504.
- Karadağ, A.E. & Tosun, F. (2019).** In vitro antimicrobial and antioxidant activity evaluation of *melampyrum arvense* L. var. *elatius* boiss. and *sedum spurium* m. bieb. extracts. *ACTA Pharmaceutica Scientia*, **57**(2), 193-201.
- Klemow, K.M., Clements, D.R., Threadgill, P.F. & Cavers, P.B. (2002).** The biology of Canadian weeds. 116. *Echium vulgare* L. *Canadian Journal of Plant Science*, **82**(1), 235-248.
- Kuruüzüm-Uz, A., Güvenalp, Z., Ströch, K., Demirezer, L.Ö. & Zeeck, A. (2004).** Phytochemical and antimicrobial investigation of *Echium vulgare* growing in Turkey. *Biochemical Systematics and Ecology*, **32**(9), 833-836.
- Lee, G.Y., Jang, D.S., Kim, J., Kim, C.S., Kim, Y.S., Kim, J.H. & Kim, J.S. (2008).** Flavan-3-ols from *Ulmus davidiana* var. *japonica* with inhibitory activity on protein glycation. *Planta Medica*, **74**(15), 1800-1802.
- Llorent-Martínez, E.J., Zengin, G., Fernández-de Córdoba, M.L., Bender, O., Atalay, A., Ceylan, R., ... & Aktumsek, A. (2017).** Traditionally used *Lathyrus* species: phytochemical composition, antioxidant activity, enzyme inhibitory properties, cytotoxic effects, and in silico studies of *L. czechotianus* and *L. nissolia*. *Frontiers in Pharmacology*, **8**, 83.
- Manganelli, R.U., Camangi, F. & Tomei, P.E. (2001).** Curing animals with plants: traditional usage in Tuscany (Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, **78**(2-3), 171-191.
- Morteza-Semnani, K., Amin, G., Shidfar, M.R., Hadizadeh, H. & Shafiee, A. (2003).** Antifungal activity of the methanolic extract and alkaloids of *Glaucium oxylobum*. *Fitoterapia*, **74**(5), 493-496.

- Orhan, I., Şener, B., Choudhary, M.I. & Khalid, A. (2004).** Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **91**(1), 57-60.
- Papageorgiou, V.P., Assimopoulou, A.N., Couladouros, E.A., Hepworth, D. & Nicolaou, K.C. (1999).** The chemistry and biology of alkannin, shikonin, and related naphthazarin natural products. *Angewandte Chemie International Edition*, **38**(3), 270-301.
- Parsons, W.T., Parsons, W.T. & Cuthbertson, E.G. (2001).** Noxious weeds of Australia. CSIRO publishing.
- Soureshjan, E. H., & Heidari, M. (2014).** In vitro Variation in antibacterial activity plant extracts on *Glaucium elegans* and Saffron (*Crocus sativus* L.) Onios. *Electronic Journal of Biology*, **10**, 64-67.
- Tağ, Ö., Yaşa, I., Polat, E., Özgökçe, F. & Karayıldırım, T. (2011).** Anti-microbial activities of leaves and stems of *Ulmus minor* Miller subsp. minor. *Planta Medica*, **77**(12), PM151.
- Tell, L.A., Woods, L. & Cromie, R.L. (2001).** Mycobacteriosis in birds. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, **20**(1), 180-203.
- Thorel, M.F., Huchzermeyer, H.F. & Michel, A.L. (2001).** Mycobacterium avium and Mycobacterium intracellulare infection in mammals. *Rev. Sci. Tech.*, **20**, 204-18.
- Whitmire, J.M. & Merrell, D.S. (2012).** Successful culture techniques for Helicobacter species: general culture techniques for Helicobacter pylori. In *Helicobacter Species* (pp. 17-27). Humana Press, Totowa, NJ.
- Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y. & Tanaka, T. (1999).** Traditional medicine in Turkey IX: Folk medicine in north-west Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, **64**(3), 195-210.
- Zheng, M.S., Yang, J.H., Li, Y., Li, X., Chang, H.W. & Son, J.K. (2010).** Anti-inflammatory activity of constituents isolated from *Ulmus davidiana* var. japonica. *Biomolecules & Therapeutics*, **18**(3), 321-328.
- Zhu, X., Skoneczny, D., Weidenhamer, J.D., Mwendwa, J.M., Weston, P.A., Gurr, G. M., Callaway, R.M. & Weston, L.A. (2016).** Identification and localization of bioactive naphthoquinones in the roots and rhizosphere of Paterson's curse (*Echium plantagineum*), a noxious invader. *Journal of Experimental Botany*, **67**(12), 3777-3788.



Kürtün Baraj Gölü'nde Yaşayan Gürcü shemaya (*Alburnus derjugini*) ve Yetiştiriciliği Yapılan Alabalık Türlerinde Parazitik İnceleme^[*]

Şevki KAYIŞ* Ahmet BİNGÖL Akif ER Zeynep Zehra İPEK

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

Geliş/Received: 13.01.2020

Kabul/Accepted: 18.05.2020

Atıf yapmak için: Kayış, Ş., Bingöl, A., Er, A. & İpek, Z.Z. (2020). Kürtün Baraj Gölü'nde Yaşayan Gürcü shemaya (*Alburnus derjugini*) ve Yetiştiriciliği Yapılan Alabalık Türlerinde Parazitik İnceleme. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 236-240.

How to cite: Kayış, Ş., Bingöl, A., Er, A. & İpek, Z.Z. (2020). Parasitic Examination of Cultured Trout Species and Georgian shemaya (*Alburnus derjugini*) Live in Kürtün Dam Lake. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 236-240.

*İD: <https://orcid.org/0000-0002-9391-7613>
İD: <https://orcid.org/0000-0003-0103-829X>
İD: <https://orcid.org/0000-0002-0052-5590>
İD: <https://orcid.org/0000-0002-5916-1891>

***Sorumlu yazarın:**

Şevki KAYIŞ
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su
Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize, Türkiye
✉: sevki.kayis@erdogan.edu.tr
Cep telefonu : +90 (505) 452 56 63
Telefon : +90 (464) 223 33 85
Faks : +90 (464) 123 41 18

Öz: Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bulunan Kürtün Baraj Gölü'nde, Gürcü shemaya (*Alburnus derjugini*), Karadeniz alabalığı (*Salmo* sp.) ve gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) olarak isimlendirilen 3 farklı balık türünden, Ekim 2016 ve Eylül 2017 tarihleri arasında, toplamda 129 örnekleme yapılmıştır. İncelenen tüm balıklar dikkate alındığında balıklardan *Ligula intestinalis*, *Paradiplozoon* sp., *Trichodina* sp., *Chilodonella cyprini*, *Vorticella* sp., *Apiosoma* sp., *Gyrodactylus* sp., *Ambiphyra* sp., ve *Ichthyophthirius multifiliis* parazitleri izole edilmiştir. *Gyrodactylus* sp., *Trichodina* sp., *Vorticella* sp., ve *Apiosoma* sp. parazitleri ise yaygın olarak gözlemlenmiştir. *I. multifiliis* sadece yetiştiriciliği yapılan alabalıklardan izole edilirken, baraj gölünde sazanlardan (*A. derjugini*) izole edilen *Ligula intestinalis* yetiştiriciliği yapılan türlerde rastlanmamıştır.

Anahtar kelimeler: Alabalık, Gürcü shemaya, Kürtün baraj gölü, parazitler.

Parasitic Examination of Cultured Trout Species and Georgian shemaya (*Alburnus derjugini*) Live in Kürtün Dam Lake

***Corresponding author's:**

Şevki KAYIŞ
Recep Tayyip Erdogan University, Faculty of
Fisheries, 53100 Rize, Turkey
✉: sevki.kayis@erdogan.edu.tr
Mobile telephone : +90 (505) 452 56 63
Telephone : +90 (464) 223 33 85
Fax : +90 (464) 123 41 18

Abstract: A total of 129 fish from 3 different species namely, Georgian shemaya (*Alburnus derjugini*), Black Sea trout (*Salmo* sp.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were sampled between October 2016 and September 2017 in Kürtün Dam Lake located in Eastern Black Sea Region of Turkey. Parasites, *Ligula intestinalis*, *Paradiplozoon* sp., *Trichodina* sp., *Chilodonella cyprini*, *Vorticella* sp., *Apiosoma* sp., *Gyrodactylus* sp., *Ambiphyra* sp., and *Ichthyophthirius multifiliis* were found in the sampling fish species. The parasites *Gyrodactylus* sp., *Trichodina* sp., *Vorticella* sp., and *Apiosoma* sp. were the common pathogens observed in all fish groups. While *I. multifiliis* was isolated only from the reared trout, *Ligula intestinalis* isolated from the carp species which has not been found in the cultivated species in the dam lake.

Keywords: Trout, Georgian shemaya, Kürtün dam lake, parasites.

GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliğinde ve doğal yaşamda balık sağlığını etkileyen birçok faktör yer almaktadır (Lasee, 1995). Yetiştiricilik ortamlarında genel stres faktörlerinin yoğun stok şartlarında balıkları olumsuz etkilediği ve doğal

stoklarda bulunan balık türlerinin kültür şartlarına göre daha sağlıklı olduğu bilinen bir gerçektir. Buna rağmen bu durum, hastalık vakalarının kültür şartlarında her zaman daha fazla ve etkili olduğu anlamına gelmemektedir. Bazı durumlarda

[*] Bu çalışma, yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

This study was produced from the master thesis.

doğal stoklarda da farklı etmenler nedeniyle kitlesel ölümlerin kültür şartlarına nazaran daha fazla olduğu durumlara da rastlanmaktadır.

Bu bağlamda, genel literatür çalışmaları irdelendiğinde bu duruma örnek olabilecek bilgilere rastlamak mümkündür. Kanada'nın batı kıyılarında doğal stoklarda yaşayan Sockeye salmonlarda (*Oncorhynchus nerka*) Caligidae sınıfına ait bir parazit olan *Lepeophtheirus salmonis*'in balıklarda ciddi mortaliteye sahip olduğu rapor edilmiştir (Johansen vd., 1996). Doğal balık stoklarında özellikle kitlesel ölümlere sebep olan planktonik etmenli vakalar, dünya genelinde oldukça yaygın olarak bildirilmektedir (Brusle, 1993). Ancak kültür şartlarında farklı patojenlerden kaynaklı balık ölüm vakaları daha yaygındır (Öztürk & Altınok, 2014). Son yıllarda balık patolojistleri özellikle aynı sucul sistemde yetiştiriciliği yapılan ve doğal balıklarda meydana gelen ölümleri ve patojen geçişlerini takip etme eğilimindedirler.

Olivier ve MacKinnon (1998), yetiştiriciliği yapılan ve doğal olarak aynı sistemde yaşayan salmonların (*Salmo salar*) patojenleri ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Yine deniz levreği (*Dicentrarchus labrax*) ile ilgili, kültür ve doğal bireylerde viral, parazitik ve bakteriyel patojen varlığı araştırılan bir diğer çalışmadır (Coz-Rakovic vd., 2002).

Bu bağlamda gerçekleştirilen çalışmanın materyal temininin sağlandığı Kürtün baraj gölü, Harşit Çayı üzerinde, Gümüşhane iline bağlı Kürtün ilçe merkezine 7 km. uzaklıkta, Özkürtün Beldesinde bulunmaktadır. Baraj gölünde Karadeniz alabalığı (*Salmo* sp.), *Capoeta banarescui*, *Barbus tauricus*, *Alburnus derjugini*, *Alburnoides fasciatus*, *Squalius orientalis* ve balıklandırma amaçlı göle bırakılan *Cyprinus carpio* türü bulunmaktadır. Bununla birlikte, Kürtün baraj gölü üzerinde bulunan işletmelerin 2015 yetiştiricilik verileri 829 ton/yıldır. Bu üretimde *Salmo* sp. ve *Oncorhynchus mykiss* türleri yer almaktadır ve gölde üretim 10 yılı aşkın bir zamandır gerçekleştirilmektedir. Günümüze kadar Kürtün baraj gölünde balık parazitleri ile ilgili bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Doğal ve yetiştiriciliği yapılan balıklar arasında patojen kontaminasyonları ya da bu türlerin patojenler tarafından konak olarak tercihleri her zaman yeni bulgulara açık olan bir yapı arz etmektedir. Sunulan bu çalışmada aynı sucul sistemde yer alan Gürcü shemaya (*Alburnus derjugini*) ve yetiştiriciliği yapılan alabalık türlerinin parazitler incelemesi yapılmış ve bu parazitlerin aylık prevalansları rapor edilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Türkiye'nin Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yer alan Kürtün Baraj Gölü'nde gerçekleştirilmiştir (40° 40' 51" K, 39° 7' 29 D"). Bu baraj

gölü 10 yıl öncesinden günümüze kadar geçen sürede aralıksız olarak kafeslerde alabalık yetiştiriciliği yapılan bir göldür.

Gürcü shemaya (*Alburnus derjugini*) ülkemiz sularında özellikle Çoruh havzasından rapor edilen bununla birlikte Harşit çayı üzerinde de kayıtlara geçen bir balık türüdür (Bayçelebi vd., 2015). Ülkemizde dağılım gösteren alabalık türleri ile ilgili yapılan çalışmalarda farklı yaklaşımlar ve tür isimlendirmeleri yapılmıştır. Yaklaşık 10 yıl öncesinde Karadeniz alabalığı olarak bilinen türün *Salmo trutta labrax*, *Salmo trutta fario* ve *Salmo trutta magrostigma* olarak değişik türler ile isimlendirildiği bilinmektedir. Ancak 2010 yılında yayımlanan bir çalışmada, bu türler içerisinde iki ana grup olduğu ve bu grupların *Salmo coruhensis* ve *Salmo rizensis* olduğu bildirilmiştir (Turan vd., 2010). Yine aynı tür ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada ise bahsi geçen bu türlerin farklı olmadığı ve tüm grubu temsil eden ismin kahverengi alabalık olarak ifade edilmesi gerektiği ve *Salmo labrax* olduğu bildirilmiştir (Altınok vd., 2020). Son olarak yayımlanan bir başka makalede ise bu tür *Salmo coruhensis* olarak listelenmiştir (Kuljanishvili vd., 2020). Bu nedenle bu çalışmada konak olarak seçilen alabalık türü Karadeniz alabalığı (*Salmo* sp.) olarak ifade edilmiştir.

Çalışmada örneklenen alabalıklardan Karadeniz alabalığı gölde bulunan kafeslere 2016 yılının Eylül ayında transfer edilmiştir. Gökkuşuğu alabalıkları ise Haziran 2016 tarihinde baraj gölüne getirilmiştir.

Doğal tür olan Gürcü shemaya (*Alburnus derjugini*) (n=50), (11.58 ±2.96 cm) Karadeniz alabalığı (n = 56), (19.43 ±5.55 cm) ve gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), (n = 23) (20.68 ±4.25), (ortalama ±SD) olmak üzere toplam 129 balık kepçe yardımıyla örneklenmiştir. Doğal balık örneklemeleri kafeslerin etrafında yüzeye yakın bölgelerden yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan balıklar Ekim 2016 ile Eylül 2017 tarihlerinde aylık olarak örneklenmiştir. Balıklar parazitler açıdan dış ve iç incelemeye tabi tutulmuşlar ve izole edilen parazitler daha önce yapılan çalışmalara göre tanımlanmıştır (Hoffman, 1966; Lom & Dykova, 1992).

Bu tanımlamada, *Ichthyophthirius multifiliis*, tüm organizmayı çevreleyen silleri, serbest yüzebilme özelliği ve hareketli olması, yaklaşık 30-45 µm çapında boyut ve türe özgü at nalı şeklinde çekirdek yapısıyla kolayca tanımlanabilmektedir. Olgun formları 1000 µm ebatlara kadar ulaşabilmektedir. Yine silli protozoan parazitlerden olan *Trichodina* sp. türleri türe özgü adhesive disk yapıları ile kolayca diğer parazitlerden ayırt edilebilmektedir. Bu çalışmada *Trichodina* türleri cins bazında tanımlanmıştır tür bazında tanımlamaya gidilmemiştir. Monogenetik trematod olan *Gyrodactylus* cinsine ait parazitler, göz lekesi olarak isimlendirilebilecek yapılarının olmaması ve kaudal kısımda 16 kancayla çevrili iki büyük kancası ve haptor kısmıyla

ayırt edilebilmektedir. Çalışma süresince baraj yüzey suyunun pH ve su sıcaklık değeri aylık olarak kaydedilmiştir.

BULGULAR

Baraj suyunun pH ve sıcaklık değerler aralıkları sırasıyla 6,74-8,3 ve 7,1-24°C olarak kaydedilmiştir. Parazitik bulgulara bakıldığında ise, yılın tüm mevsimlerinde en yüksek prevalansta sahip olan parazit türünün Gürcü shemaya türünden izole edilen *Ligula intestinalis* olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

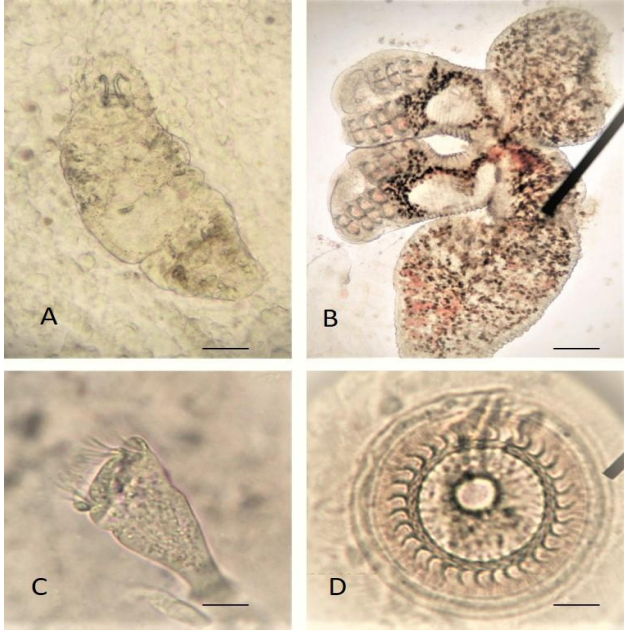
Tablo 1. Yetiştiriciliği yapılan ve doğal balıklardan izole edilen parazitlerin prevalansları.

Table 1. Prevalence of parasites isolated from cultured and wild fish.

Y (9) %	A. derjugini (n)			Parazitler	S (12) %	K. Alabalığı ve O. mykiss (n)		
	İ (12) %	K (7) %	S (22) %			K (19) %	İ (22) %	Y (26) %
11.1	-	-	-	<i>Gyrodactylus</i> sp.	-	26.3	27.2	3.8
-	66.6	100	13.6	<i>Trichodina</i> sp.	-	5.2	13.6	7.6
-	8.3	-	4.3	<i>Vorticella</i> sp.	-	10.5	13.6	-
-	-	-	8.6	<i>Apiosoma</i> sp.	-	21.0	-	-
-	-	-	8.6	<i>Chilodonella cyprini</i>	-	-	18.1	-
44.4	8.3	100	43.7	<i>Ligula intestinalis</i>	-	-	-	11.5
66.6	33.3	-	4.3	<i>Paradiplozoon</i> sp.	-	-	-	-

(%): prevalans, S: sonbahar, K: kış, Y: yaz, İ: ilkbahar, n: balık sayısı.

(%): prevalence, S: autumn, K: winter, Y: summer, İ: spring, n: number of fish.



Şekil 1. *Alburnus derjugini*'den izole edilen parazitlerden bazıları A: *Gyrodactylus* sp., bar 0,06 mm, B: *Paradiplozoon* sp. bar 2 mm, C: *Apiosoma* sp. bar 5 μm, D: *Trichodina* sp. bar 15 μm.

Figure 1. Some parasites isolated from *Alburnus derjugini* A: *Gyrodactylus* sp., Bar 0.06 mm, B: *Paradiplozoon* sp. bar 2 mm, C: *Apiosoma* sp. bar 5 μm, D: *Trichodina* sp. bar 15 μm.

TARTIŞMA

Sucul sistemlerde, su sıcaklık ve pH değerleri balık parazitlerinin prevalans ve yoğunluk değerlerine etki eden faktörlerdir (Austin & Austin, 2007; Woo, 2006). Bu çalışmada örneklenen balıklar için su sıcaklık değerleri ve

Yine aynı tür için bir diğer yüksek prevalansa sahip olan parazit ise *Trichodina* sp. dir. Bunlara ek olarak kış ayları haricinde, bu balık türü için yılın her mevsiminde gözlemlenen parazit türü *Paradiplozoon* sp. olmuştur. Kültür balıkları ve doğal tür olan balık için parazit farklılığı irdelendiğinde ise, özellikle *Gyrodactylus* sp.'nin kültüre edilen türlerde daha fazla yaygın olması ve *Ichthyophthirius multifiliis* ve *Ambiphyra* sp. türlerinin doğal türde gözlemlenmemesi olmuştur. Çalışmada izole edilen parazit türlerinden bazıları Şekil 1'de gösterilmiştir.

pH değerleri balıklar için sınır değerlerde tespit edilmiştir. Sadece alabalıklar için, stres oluşturabilecek yaz aylarında en yüksek sıcaklık değeri olarak 24°C kaydedilmiştir. Bu dönemde her iki konak grubunda (doğal ve kültür) ortak olan parazit türü, *Gyrodactylus* sp. olmuştur. Su sıcaklık değerlerinin değişmesi ile (mevsimsel değişim) balıklardan izole edilme arasında, bağlantısı olmayan tek parazit türü *Ligula intestinalis* olmuştur. Bu iki parazit farklı konak gruplarını seçmeleri dışında ortak sayılabilecek özellikleri konaklara tutunma kabiliyetleri olarak ifade edilebilir. Zira *Gyrodactylus* sp. kanca yapısı ile güçlü bir tutunma özelliğine sahiptir (Balta & Dengiz Balta, 2018). *L. intestinalis* ise iç parazit olma özelliği ve balıkların vücut boşluğunda uzun süre kalabilme özelliğine sahiptir. Bu durum mevsim değişimlerine rağmen bu parazitlerin kendi gruplarında sıklıkla izole edilebilmelerine olanak sağlamış olabilir.

Ligula intestinalis (sestod) ve *Paradiplozoon* sp. (monogenean) sazan türlerinde yaygın olarak rapor edilen parazitlerdir (Kayış vd., 2018; Noga, 2010). Bu çalışmada da bu parazit türleri *Alburnus derjugini*'den yaygın bir şekilde izole edilirken, alabalık türlerinde kaydedilmemiştir. Buna karşın, *Ichthyophthirius multifiliis* alabalıklardan izole edilirken doğal tür olan sazanlardan izole edilememiştir. Bu bulgu geçmiş bilgilere ve raporlara göre farklılık arz etmektedir. Zira *Ichthyophthirius multifiliis* sazan türlerinden rapor edilen ve yaygınlığı olan bir parazittir (Balta & Dengiz Balta, 2017; Kayış vd., 2018). Benzer bir şekilde *Gyrodactylus* sp. türünde de geçmiş bilgiler ile örtüşmeyen bir bulgu söz konusudur.

Bilindiği üzere *Gyrodactylus* çok farklı konak seçiciliğine sahip bir parazittir, ancak bu çalışmada alabalık türlerinde sadece sonbahar mevsiminde izole edilemezken, doğal tür olan sazanalarda sadece yaz mevsiminde düşük bir yaygınlıkta kaydedilebilmiştir. Bu bulgu *Gyrodactylus* sp. için ilk kontaminasyonun önemli olduğunu gösterebilir. Bu çalışmada kaydedilen tüm parazitler içerisinde tüm türler ve mevsimleri temsil edebilecek tek parazit türünün *Trichodina* sp. olduğu görülmüştür. Zira bu türün özellikle sadece tatlı su ortamında değil denizel ortamda da bulunduğu ve balıklarda enfestasyona sebep olabildiği bilinmektedir. *Trichodina* sp. türlerinin organik yükün fazla olduğu sularda daha fazla izole edildiği rapor edilmiştir (Öğüt & Palm, 2005). Baraj gölü suyunun yerleşim yeri içerisinde olması ve atık suların arıtılmadan göle deşarj edildiği bir gerçektir. Bu bağlamda irdelendiğinde bu türün hemen her mevsimde izole edilmesi ile göl suyunun organik yükünün bir ilişkisi olabilir. Bu konu daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır.

Chilodonella cyprini, gökkuşağı alabalıklarından (*Onchorhynchus mykiss*) izole edilen bir protozoan parazit türüdür (Balta vd., 2019; Kayış vd., 2016). Bu çalışmada sadece sazan türünden bir mevsim izole edilebilmiştir. Bu veriler, *Chilodonella cyprini*, *Ichthyophthirius multifiliis* ve *Ambiphyra* sp. gibi protozoan parazitler özelinde düşük yaygınlıkta olmaları durumunda tür geçişlerinde düşük olasılık olabileceğini göstermektedir.

Çalışmada dikkat çeken bir ayrıntı ise sonbahar aylarında yetiştiriciliği yapılan alabalık türlerinden hiç parazit izolasyonunun yapılamaması, buna karşın doğal tür olan *Alburnus derjugini* türünden ise 6 farklı parazit türünün izole edilmiş olmasıdır. Bu durum özellikle yetiştiriciliği yapılan alabalıkların çalışma başlangıcı ile aynı tarihlere yakın zamanda kara tesislerinden baraj gölüne transferi ile açıklanabilir. Bu bulgu parazitlik kontaminasyonun netliğini ortaya koyma açısından önem arz etmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi (Proje no; FYL 2016-682) tarafından desteklenmiştir.

[*] Bu Çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tez Çalışması Olarak Sunulan "Kürtün Baraj Gölü'nde Bakteriyel ve Paraziter Balık Patojenlerinin Araştırılması" İsimli Tezden Üretilmiştir.

KAYNAKLAR

Altınok, I., Öztürk, R.Ç., Çapkin, E. & Kalayci, G. (2020). Experimental crossbreeding reveals

variation in growth among brown trout (*Salmo trutta*) strains and their reciprocal crossbreeds. *Aquaculture*, **521**, 734983.

Austin, B. & Austin, D.A. (2007). *Bacterial fish pathogens: Disease of Farmed and Wild Fish*, 4th ed., Springer Praxis Publishing, Chichester, UK , 552p.

Balta F & Dengiz Balta, Z. (2017). Kültürü Yapılan Karadeniz Alabalığı (*Salmo coruhensis* syn. *Salmo labrax*)'nda Görülen Bazı Dış Siliat Protozoon Parazit Enfestasyonları ve Tedavileri. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **2**(2), 29-33. DOI: [10.35229/jaes.327056](https://doi.org/10.35229/jaes.327056)

Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2018). *Gyrodactylus* spp. infection in cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **3**(3), 141-144. DOI: [10.35229/jaes.477438](https://doi.org/10.35229/jaes.477438)

Balta, F., Balta, Z.D. & Akhan, S. (2019). Seasonal distribution of protozoan parasite infections in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the Eastern Black Sea of Turkey. *Bulletin of The European Association of Fish Pathologists*, **39**, 31-39.

Bayçelebi, E., Turan, D. & Japoshvili, B. (2015). Fish Fauna of Çoruh River and Two First Record for Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **15**, 777-788.

Brusle, J. (1993). The impact of harmful algal blooms on finfish occurrence of fish kills, pathology, toxicological mechanisms, ecological and economic impacts. *Conférence Internationale Sur Le Phytoplankton Marin Toxique*. 55-75p. Nantes, France.

Coz-Rakovic, R., Strunjak-Perovic, I., Topic Popovic, N., Hacmanjek, M., Simpraga, B. & Teskerdzic, E. (2002). Health status of wild and cultured sea bass in the Northern Adriatic Sea. *Veterinarni Medicina Czech*, **47**(8), 222-226.

Hoffman, G.L. (1966). *Key to parasites of freshwater fish of the U.S.S.R.*, Fish and Wildlife Publications, Lincoln-California, U.S., 106p.

Johansen, L.H., Jensen, I., Mikkelsen, H., Bjørn, P.A., Jansen, P.A. & Berg, Ø. (2011). Disease interaction and pathogens exchange between wild and farmed fish populations with special reference to Norway. *Aquaculture*, **315**, 167-186. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2011.02.01](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.02.01).

Kuljanishvili, V., Epitashvili, G., Freyhof, J. & Japoshvili, B. (2020). Checklist of the freshwater fishes of Armenia, Azerbaijan and Georgia. *Journal of Applied Ichthyology*, DOI: [10.1111/jai.14038](https://doi.org/10.1111/jai.14038).

- Kayis, S., Duzgun, A. & Er, A. (2018).** Bacterial and parasitic pathogens isolated from some wild cyprinid fishes. *El Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5, 763-772. DOI: [10.31202/ecjse.42256](https://doi.org/10.31202/ecjse.42256).
- Kayis S., Er, A. & Kacar, Z.Z. (2016).** Rize İl'inden örneklenen bazı balık türlerinde dış protozoan parazitlerin araştırılması, *Journal of Anatolian Environmental & Animal Sciences*, 1(2), 44-47.
- Lasee, B.A. (1995).** *Introduction to Fish Health Management*, Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Centre 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, U.S., 139p.
- Lom, J. & Dyková, I. (1992).** *Protozoan parasites of fishes*, *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, Elsevier, Amsterdam, 316p.
- Noga, E.J. (2010).** *Fish disease–diagnosis and treatment*. 2nd Ed., Wiley-Blackwell, State Avenue, Ames, Iowa, U.S.A., 519p.
- Olivier, G. & MacKinnon, A.M. (1998).** *A review of potential impacts on-wild salmon stocks from diseases attributed to farmed salmon operations*. Canadian Stock Assessment Secretariat Research Document, 98/159.
- Öğüt, H. & Palm, H.W. (2005).** Seasonal dynamics of *Trichodina* spp. on whiting (*Merlangius merlangus*) in relation to organic pollution on the eastern Black Sea coast of Turkey. *Parasitol Res*, 96, 149-153.
- Öztürk, R.Ç. & Altınok, I. (2014).** Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 14, 275-297. DOI: [10.4194/1303-2712-v14_1_30](https://doi.org/10.4194/1303-2712-v14_1_30).
- 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(4), 333-364.
- Woo, P.T.K. (2006).** *Fish Diseases and Disorders, Vol. 1: Protozoan and Metazoan Infections*, 2nd ed., CABI North American Office Published Cambridge, M.A., U.S.A., 791p.



Molecular Characterization of *Anisakis typica* (Nematoda: Anisakidae) from the Mediterranean Sea Coasts of Turkey: First Mitochondrial *rnrS* Sequence Data

Gökmen Zafer PEKMEZCİ* Ertan Emek ONUK

Department of Aquatic Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Ondokuz Mayıs, 55200 Kurupelit Samsun, Turkey

Geliş/Received: 17.05.2020

Kabul/Accepted: 15.06.2020

How to cite: Pekmezci, G.Z. & Onuk, E.E. (2020). Molecular Characterization of *Anisakis typica* (Nematoda: Anisakidae) from the Mediterranean Sea Coasts of Turkey: First Mitochondrial *rnrS* Sequence Data. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 241-244.
Atf yapmak için: Pekmezci, G.Z. & Onuk, E.E. (2020). Türkiye'nin Akdeniz Kıyılarından *Anisakis typica*'nın (Nematoda: Anisakidae) Moleküler Karakterizasyonu: İlk Mitokondriyal *rnrS* Dizi Verileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 241-244.

*ID: <https://orcid.org/0000-0002-7791-1959>
ID: <https://orcid.org/0000-0001-7643-046X>

*Corresponding author's:
Gökmen Zafer PEKMEZCİ
Department of Aquatic Animal Diseases,
Faculty of Veterinary Medicine, University of
Ondokuz Mayıs, 55200 Kurupelit Samsun,
Turkey.
✉: zpekmezci@omu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (533) 315 68 57
Telephone : +90 (362) 312 19 19 /2229
Fax : +90 362) 457 69 22

Abstract: There is no study about the molecular characterization of the mitochondrial *rnrS* gene of *Anisakis typica* from the Turkish Mediterranean coasts. Thus, molecular characterization of the *rnrS* gene of *A. typica* from Turkish waters is aimed for the first time in the present study. Ascaridoid marine nematodes were collected and morphologically identified by light microscope. Identified *Anisakis* type I larvae were randomly selected and molecularly analysed by Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) for the internal transcribed spacer (ITS) region. *Anisakis typica* larvae identified by PCR-RFLP analyses were amplified and sequenced with both directions for the *rnrS* gene. The *rnrS* sequence of *A. typica* from the Mediterranean coasts of Turkey (MT395672) showed 99.80% identity (100% query coverage) with *rnrS* gene of *A. typica* (JX500052) from the Caribbean Sea, Atlantic Ocean. Between *A. typica* from the Mediterranean Sea (MT395672) isolate and the Caribbean Sea isolate differed by only one nucleotide (C–T, at alignment position 437). Pairwise genetic distance between the *rnrS* sequence of *A. typica* herein and other *A. typica* from the Caribbean Sea was 0.002. Consequently, we determined the mitochondrial *rnrS* data of *A. typica* from the Mediterranean Sea in the present study for the first time. The valid genetic data (MT395672) reported here can be used to molecular identification of *Anisakis* species from the Mediterranean Sea and worldwide.

Keywords: *Anisakis typica*, Mediterranean Sea, molecular characterization, small subunit of rRNA (*rnrS*).

Türkiye'nin Akdeniz Kıyılarından *Anisakis typica*'nın (Nematoda: Anisakidae) Moleküler Karakterizasyonu: İlk Mitokondriyal *rnrS* Dizi Verileri

Öz: Türkiye Akdeniz kıyılarındaki *Anisakis typica*'nın mitokondriyal *rnrS* geninin moleküler karakterizasyonu hakkında bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle mevcut araştırmada Türk sularından izole edilen *A. typica*'nın *rnrS* geninin moleküler karakterizasyonu amaçlanmıştır. Ascaridoid deniz nematodları toplandı ve morfolojik olarak ışık mikroskobu ile teşhis edildi. Tanımlanan *Anisakis* tip I larvaları rastgele seçildi ve Sınırlayıcı Enzim Parça Uzunluk Çeşitliliği (RFLP) yöntemi ile internal transcribed spacer (ITS) bölgesi yönünden moleküler olarak analiz edildi. RFLP analizleri ile *Anisakis typica* olarak teşhis edilen larvaların *rnrS* geni çoğaltıldı ve iki yönlü DNA dizi analizleri yapıldı. Türkiye'nin Akdeniz kıyılarından elde edilen *A. typica*'nın *rnrS* geni (MT395672) Atlantik Okyanusu Karayip Denizinden elde edilen *A. typica*'nın *rnrS* geni (JX500052) ile %99,80 oranında (%100 sorgu kapsamı) benzerlik gösterdi. Akdeniz'den *A. typica* (MT395672) izolatu ile Karayip Denizi izolatu arasında sadece bir nükleotit (C – T, hizalama pozisyonu 437) farklıydı. Buradaki *A. typica*'nın *rnrS* dizisi ile Karayip Denizi'nden diğer *A. typica* arasındaki ikili genetik mesafe 0.002'dir. Sonuç olarak bu çalışmada ilk kez Akdeniz'den *A. typica*'nın mitokondriyal *rnrS* verilerini belirledik. Burada bildirilen geçerli genetik veri (MT395672), *Anisakis* türlerinin Akdeniz'den ve dünyadan moleküler tanımlanması için kullanılabilir.

*Sorumlu yazar:
Gökmen Zafer PEKMEZCİ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner
Fakültesi, Su Ürünleri Hastalıkları Anabilim
Dalı, 55200 Kurupelit Samsun, Türkiye.
✉: zpekmezci@omu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (533) 315 68 57
Telephone : +90 (362) 312 19 19 /2229
Fax : +90 362) 457 69 22

Anahtar kelimeler: Akdeniz, *Anisakis typica*, küçük alt ünite rRNA (*rnrS*), moleküler karakterizasyon.

INTRODUCTION

Adult nematodes of *Anisakis* Dujardin, 1845 are mainly found in the gastrointestinal canal of marine mammals. Different species of marine mammals and fish and squids serve as definite and intermediate or paratenic hosts, respectively. Until now based on molecular genetic markers such as nuclear and mitochondrial DNA, nine distinct *Anisakis* species have been reported in the world. Among the mitochondrial markers, the cytochrome oxidase I (*cox1*), II (*cox2*) and the small subunit of rRNA (*rrnS*) genes are often prepared for molecular characterizations of *Anisakis* species. The specimen of *A. typica* has been widely distributed in definitive and intermediate or paratenic hosts at marine waters between 35–40°N to 36°S as geographic coordinates (Mattiucci & Nasseti 2008, Mattiucci et al., 2018).

Both mitochondrial *cox2* and nuclear ITS data of *Anisakis* species from marine fish were previously reported from coasts of Turkey (Pekmezci et al., 2014). Moreover, molecular characterization of *rrnS* loci of only *Hysterothylacium aduncum* and *Contracaecum overstreeti* among ascaridoids nematodes of marine fish was made in the Turkish waters (Pekmezci & Yardimci, 2019; Pekmezci, 2019). Up to date, there is no study about the molecular characterization of the mitochondrial *rrnS* gene of *A. typica* from the Turkish Mediterranean coasts. Therefore, the molecular characterization of the *rrnS* gene of *A. typica* from Turkish waters is aimed for the first time in the current study.

MATERIAL AND METHOD

Morphological examinations, PCR and RFLP analysis: Nematodes were collected from *Merluccius merluccius* in the Mediterranean coasts of Turkey. These were individually cut into three parts. The anterior and posterior parts were used for morphological identifications. The middle parts were used for DNA extractions using commercial kits. Nematodes were morphologically identified by light microscope according to Berland, (1961) and Petter and Maillard, (1988). Morphologically identified representative specimens were randomly selected and genetically analysed. The ITS regions of nuclear DNA were amplified using NC5/NC2 primers (Zhu et al., 1998). The ITS regions were then digested with *HhaI* and *HinfI* enzymes using RFLP analysis to identify the species (D’Amelio et al., 2000). All PCR amplicons and RFLP patterns were electrophoresed on 2% gel and visualized under UV illumination. The *rrnS* gene of the mitochondrial DNA of the selected *Anisakis* species was amplified with MH3/MH4.5 primer pairs (D’Amelio et al., 2007).

DNA Sequencing and Genetic analysis: Selected three individuals were sequenced both directions with MH3/MH4.5 primer pairs using Sanger methods for the *rrnS* gene. We checked the sequence quality, assembled and then trimmed to remove primers in Geneious R11 (Kearse et al., 2012). The assembled sequence was blasted in GenBank database to examine the nucleotide similarity (Altschul et al., 1990). Obtained *rrnS* data from Genbank were aligned by ClustalW in MEGA X multiple sequence alignments (Kumar et al., 2018) and adjusted manually. Pairwise distances were estimated using the K2P model in MEGA X (Kumar et al., 2018).

RESULTS

Ascaridoid nematodes were morphologically identified as third stage of *Anisakis* type I larvae. Some specimens of *Anisakis* larvae were classified as *A. typica* by RFLP analyses with *HhaI* and *HinfI* enzymes as previously described by D’Amelio et al., (2000). The amplified *rrnS* gene of *A. typica* was produced ~500 bp in the PCR analyses. After DNA sequencing of *rrnS* gene and trimmed to primers, the 494 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: MT395672. Nucleotide difference in the *rrnS* sequences between *A. typica* from the Mediterranean Sea (MT395672) and the Caribbean Sea differed by one nucleotide (C–T, at alignment position 437) (Figure 1). Pairwise genetic distance between the *rrnS* sequence of *A. typica* herein and other *A. typica* from the Caribbean Sea was 0.002.

MT395672	1	TATAA	60
JX500052	17	76
MT395672	61	ttagggtga	120
JX500052	77	136
MT395672	121	GCCAGATTAGTACCTGGTTAGATAAAATTTAAAGAGCAGGAGTAAAGTTGATTATTAAC	180
JX500052	137	196
MT395672	181	TGTAAGAAATATTGGCAGGTTTTTAAATTAATCTTTGGAGGTTGAGTAGTAATTGAGAACCC	240
JX500052	197	256
MT395672	241	TCATTAACAACCTTTTTATTGGGCGCATGTATGATCGTTTATTTTATCTCTTAAGGATTGT	300
JX500052	257	316
MT395672	301	AATTTTAAATTTTGGTTGTAATAATAGATAGATATCTGGCTTATGAAAAAGATTTAATTT	360
JX500052	317	376
MT395672	361	GACCTACAATAAATAATTTTGTGGATGCCCGGCTTGTGGCCCGGCTGAAATTTGTAAGAAG	420
JX500052	377	436
MT395672	421	ACAGTAAACCTCTTTTCATGGGGGGTTGAAGTTTATTTAAAAACGGTACAAATCATCCAT	480
JX500052	437T.....	496
MT395672	481	CAATTGCCATAGG	494
JX500052	497	510

Figure 1. Nucleotide difference in the *rrnS* sequences between *A. typica* from the Mediterranean Sea (MT395672) and the Caribbean Sea (JX500052) isolates.

DISCUSSION

This study represents first data on the molecular characterization of the *rrnS* gene region of *A. typica* isolated from the Mediterranean Sea. The sequence analysis of the *rrnS* loci of *A. typica* was firstly characterized from the Caribbean Sea, Atlantic Ocean by Mattiucci et al., (2014) and previously submitted as accession number JX500052 in GenBank database. A new valid *rrnS* sequence of *A. typica* (accession number MT395672) in the present study was the second record in the GenBank database. Our *rrnS* sequence of *A. typica* from the Mediterranean coasts of Turkey (MT395672) showed 99.80% identity (100% query coverage) with *rrnS* gene of *A. typica* (JX500052) from the Caribbean Sea, Atlantic Ocean (Mattiucci et al., 2014). Moreover, a search in GenBank database showed that *rrnS* sequence of *A. typica* in the present study were ranged from 88.91% to 91.11% identical to *rrnS* sequences of *A. physeteris* (JX500055), *A. brevispiculata* (JX500056), *A. paggiae* (JX500057), *A. simplex* x *A. pegreffii* (AB831878), *A. nascettii* (JX500054), *A. ziphidarum* (JX500053), *A. pegreffii* (LC222461) and *A. simplex* (AY994157). These results showed that mitochondrial *rrnS* gene could be used effectively in the genetic distinction of *Anisakis* species. Pairwise genetic distance for mitochondrial *rrnS* loci showed a very low-level variation among the Mediterranean Sea isolate of *A. typica* (MT395672) herein and the Caribbean Sea isolate of *A. typica* previously found (JX500052) (p distance=0.002). We considered the very low level of nucleotide differences (0.2%) between those isolates of *A. typica* as intraspecific nucleotide differences because of the different geographical locations.

CONCLUSION

We determined the mitochondrial *rrnS* data of *A. typica* from the Mediterranean Sea in the present study for the first time. Moreover, the new valid *rrnS* sequence (accession number MT395672) was the second record in the GenBank and this unique data can be also used to molecular identification of *Anisakis* species from the Mediterranean Sea and worldwide.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare 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., 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).
- D'Amelio, S., Barros, N.B., Ingrosso, S., Fauquier, D.A., Russo, R. & Paggi L. (2007). Genetic characterization of members of the genus *Contraecaecum* (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).
- 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 and Evolution*, **35**, 1547-1549. DOI: [10.1093/molbev/msy096](https://doi.org/10.1093/molbev/msy096).
- 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. & 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., 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. (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. *Etilik*

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).
- 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).
- 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.
- 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).



Artvin Ladin Ormanlarında *Ips typographus* L. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)'un Epidemi Yapmasına Toprak Yapısının Etkileri

Mimar Sinan ÖZKAYA

Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Artvin, Türkiye

Geliş/Received: 20.04.2020

Kabul/Accepted: 16.06.2020

Atıf yapmak için: Özkaya, M.S. (2020). Artvin Ladin Ormanlarında *Ips typographus* L. (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)'un Epidemi Yapmasına Toprak Yapısının Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 245-252.

How to cite: Özkaya, M.S. (2020). Some Soil properties in healthy and unhealthy stands dominated with Oriental Spruce in Artvin under threat of *Ips typographus* L.. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 245-252.

<https://orcid.org/0000-0003-2146-3867>

***Sorumlu yazarın:**

Mimar Sinan ÖZKAYA
Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Artvin,
Türkiye.

✉: mimarsinanozkaya@ogm.gov.tr
Cep telefonu : +90 (505) 378 80 00

Öz: Artvin Orman Bölge Müdürlüğü Ladin (*Picea orientalis*) ormanlarında ilk kez 1984 yılında tespit edilen *Ips typographus* (Sekiz Dişli Kabuk Böceği) ile mekanik, biyoteknik ve biyolojik mücadele yapılarak doğal denge sağlanmıştı. Ancak 2013 yılından itibaren böcek yoğunluğunda ve kurumalarda artışlar görülmüştür. Bu kurumaların iklim ve toprak kaynaklı olduğu düşünülmüştür. Bu amaçla son yıllarda yaşanan kuraklık ile topraktaki değişimlerin araştırılması için ağaç kurumalarının yoğun olduğu ormanlık alanlarda ve bitişindeki sağlıklı alanlarda toprak özellikleri incelenmiştir. Ladin ağaçlarının kuruma gösterdiği ve sağlıklı yetiştiği sahalardan alınan toprak örneklerinin tahlilinde, sağlıklı sahadaki organik madde miktarının ortalama %5,48, pH değeri 6,09, kum oranı değeri %64,44, kil oranı değeri %22,08 ve toz oranı değeri %13,48 bulunmuştur. Kurumaların yoğun olduğu sahalardan alınan topraklarda organik madde miktarının %5,58, pH değerinin 6,01, kum oranının %51,52, kil oranının %28,94 ve toz oranının %19,54 olduğu tespit edilmiştir. Kurumaların yoğun olduğu sahalardaki topraklarda kil miktarının, sağlıklı ladin bireylerinin bulunduğu sahalara oranla daha fazla olması, toprakta kötü havalanma koşullarını oluşturmuş ve köklerin derin toprak katmanlarına ulaşmasını engellemiş olma olasılığına dayandırılabilir. Bu durum, derin toprak katmanlarından su alamayan ladin ağaçlarının da daha fazla strese girmesi nedeniyle zayıf düşmesi ve böylece böcek zararına maruz kaldıkları şeklinde yorumlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Feromon, *Ips typographus*, *Picea orientalis*, toprak yapısı.

Some Soil properties in healthy and unhealthy stands dominated with Oriental Spruce in Artvin under threat of *Ips typographus* L.

Abstract: *Ips typographus* (Eight Toothed Bark Beetle) was first observed in stands dominated with *Picea orientalis* (oriental spruce) under management of Artvin Regional Forest Directorate. Since then mechanical, biotechnical and biological control techniques were exercised in combating the pest for the stands' health and vitality. However, the population of the insect has increased since 2013. This might be attributed to the soil condition and climate change considering mainly drought and soil properties in changing environment encountered in the region recently. Soil properties were analyzed in soil samples taken from the healthy stands and the adjacent stands where the oriental spruce tree mortality occurred. The average percentage of organic matter, sand, clay, silt and value of pH were found as 5.48%, 64.44%, 22.08%, 13.48% and 6.09 in healthy stands, respectively. It has been determined in soils where tree dieback is intense that the amount of organic matter is 5.58%, the pH value is 6.01, the sand rate is 51.52%, the clay rate is 28.94% and the silt rate is 19.54%. The amount of clay in the soils of areas with dense dieback than the healthy spruce areas soils can be based on the possibility of bad ventilation conditions in the soil and preventing the roots to reach deep soil layers. This situation has been interpreted as spruce trees, which cannot get water from the deep soil layers, fall weak due to more stress and thus they are exposed to insect damage.

***Corresponding author's:**

Mimar Sinan ÖZKAYA
Artvin Regional Directorate of Forestry,
Artvin, Turkey.

✉: mimarsinanozkaya@ogm.gov.tr
Mobile telephone : +90 (505) 378 80 00

Keywords: *Ips typographus*, *Picea orientalis*, soil properties, stand.

GİRİŞ

Ormanlar sahip oldukları kaynak değerleri bakımından; ülkelerin korunmasında, kalkınmasında ve sürdürülebilir yaşam kalitesinin sağlanmasında çok güçlü bir kaynak değerine sahiptir (Yüksek, 2017). Artvin Orman Bölge Müdürlüğü ormanları, zararlı organizmalar için Türkiye ile Gürcistan arasında geçiş noktası olarak kabul edilebilir. Doğu Karadeniz ladin ormanları 1970'li yıllardan itibaren *Dendroctonus micans* (Kugelann)'ın, 1984'lı yıllardan itibaren ise *Ips typographus* (L.)'un yoğun olarak zararına uğrayarak zayıf düşmüştür (Keskinalemdar vd., 1987; Göktürk, 2009; Coşkun vd., 2010; Göktürk vd., 2011). *D.micans* ile 1985-2003 yılları arasında laboratuvar şartlarında *Rhizophagus grandis* üretilip, böceğin zarar yaptığı ağaçlara verilerek biyolojik mücadele yapılmış ve zararlı doğal denge sınırına indirilmiştir (Keskinalemdar vd. 1986; Aksu, 2011). Ancak ilk defa 1984 yılında tespit edilen *Ips typographus*, 2000'li yıllardan sonra toplu ağaç ölümlerine neden olmaya başlamıştır. *Ips typographus*'a karşı 2003 yılından itibaren yoğun bir şekilde biyoteknik ve mekanik mücadele çalışmaları yürütülmüştür (Coşkun vd., 2010; Özkaya vd., 2010). Mücadelenin en yoğun yapıldığı 2003-2011 yıllarında, böceğin zarar yaptığı sahalara asılan feromon tuzakları ile yaklaşık 303617500 adet *Ips typographus* ergini toplanarak imha edilmiştir. Sarıyıldız vd., (2006) yılında Hatula Vadisi Milli Park sahasındaki ladin meşcerelerinde *Ips typographus* zararı ile ilgili yapmış oldukları çalışmada, toprak ve meşcere özellikleri arasında negatif bir ilişki olduğu tespit edilmiş ve genel olarak, çok zarar gören meşcereler en düşük toprak organik maddesi ve besin elementlerine sahip olurken, bunu az zarar gören ve kontrol meşcereleri izlemiştir (Sarıyıldız vd., 2010). Başka bir çalışmada ise, Doğu Ladininin geliştiği alanlardaki doğal faktörler örneğin yetiştiği alandaki toprak ve meşcere özellikleri ve iklim şartları alandaki Doğu Ladini meşcerelerine *Ips typographus* kabuk böceğinin saldırısını önemli derecede etkilemektedir (Sarıyıldız vd., 2008), ayrıca kum miktarının yüksek, organik madde ve bitki besin elementlerinin az olduğu topraklar üzerinde gelişen Doğu Ladini meşcereleri *Ips typographus* zararlısının saldırılarına daha duyarlıdır (Sarıyıldız vd., 2008). Şavşat Orman İşletme Müdürlüğü, Şavşat İşletme Şefliğinde 2014 yılından itibaren, Efkar tepe mevki ve Elmalı mevkiinde ladin ağaçlarında münferit olarak başlayan ağaç kurumaları, 2016 yılından itibaren artış göstererek, 2018-2019 yıllarında en üst seviyeye çıkmıştır. 100-110 nolu bölmelerde 2018 yılında 1159 adet, 2019 yılında 2342 adet olmak üzere toplam 3501 adet *Ips typographus*'un kuruttuğu ağaçlar kesilerek alandan çıkarılmıştır. *D.micans* ve *I. typographus*'un ardından *Pristiphora abietina* (Christ) 2008 yılında Şavşat'ta zarar yapan böcek türü olarak literatüre girmiştir (Aksu vd.,

2008). Gürcistan ladin ormanları üzerinden ülkemiz ormanlarına giriş yapan istilacı türlerden, *D.micans*'in ve *I. typographus*'un işgal ettiği ladin ormanlarımızın tamamında, yerli böcek türümüz olan *I. sexdentatus*'un zararı da mevcuttur (Özkaya vd., 2010).

Dünya genelinde ibreli ormanlardaki kabuk böceklerinin epidemi yapmasına neden olan faktörler arasında, iklim koşullarının olumsuzluğu ve ağaçlarda kar kırmaması, fırtına devriği, toprak kayması ve sel gibi olaylar sonucu köklerin açığa çıkması gibi olaylar sonucunda meşceredeki ağaçların zayıf düşmesi gelmektedir. Stres ağaçların dış etkenlere hassas hale gelmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Stres faktörlerinin başında kuraklık, yani su açığı gelmektedir. Yapılan araştırmalarda, kuraklığın etkisiyle meydana gelen ağaç kurumalarının %25'inde böcek zararı ve ağaç hastalıklarının etken olduğu belirlenmiştir (Semerci vd., 2006; Şimşek vd., 2010a,b).

Ladin, sarıçam, göknar gibi iğne yapraklı ağaçların reçinesi kabuk böceklerinin girişine karşı kullandıkları en önemli direnç faktörüdür. Ağaçların kabuğunu delerek veya lokal yaralardan içeriye girmeye çalışan böcekler ağaçları ürettikleri reçine tarafından engellenmektedir. Sağlıklı ağaçların kabukları altında kristalleşmiş reçine içerisinde ölü halde kabuk böceklerinin görülmesi; bu ağaçlardaki reçinenin kabuk böceklerine karşı bir tuzak gibi işlev görmesinden dolaydır (Şimşek vd., 2010).

Kuraklık, su ve toprak yapısı sonucu besin stresi, ibreli ağaçların fizyolojisi ve fenolojisini etkileyerek savunma mekanizması olan reçine üretimini de olumsuz yönde değiştirecektir Toprakta bulunan kullanılabilir su durumu ve toprak özellikleri ile zararlı böcekler karşı ağaçların göstereceği pozitif direnç arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (Şimşek vd., 2006).

Kabuk böceği salgınının olduğu ormanlık alanlarda iklim kadar toprak özelliklerinin de ele alınması gerekmektedir. Bu amaçla, kurumaların yoğun olduğu Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Şavşat Orman İşletme Müdürlüğü, Şavşat Orman İşletme Şefliği Ladin (*Picea orientalis*) ormanlarında, 100-110 nolu bölmelerde, *Ips typographus*'un epidemi yapmasında ana sebebinin bazı toprak özellikleri ile ilgili olup olmadığının araştırılması amacıyla bu çalışma, 2019-2020 yılları arasında yürütülmüştür.

MATERYAL VE METOT

Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Şavşat Orman İşletme Müdürlüğü'ne bağlı Şavşat Orman İşletme Şefliğinde yayılış gösteren, *Picea orientalis*'lerin kuruyan sahalara ile sağlıklı ağaçların bulunduğu alanlarda çalışma yapılmıştır. Alanlardaki toprak örnekleri, *Ips*

typographus'a özgü feromon tuzakları ve dispenserleri çalışmanın ana materyalini oluşturmuştur. Çalışmada, GPS, stereo mikroskop, plastik kaplar ve naylon poşet diğer materyal olarak yer almıştır.

Çalışma alanının koordinatları; *I. typographus*'un bulunmadığı Veliköy Orman İşletme Şefliği 179 nolu bölmenin koordinatları, Y-283602, X-4573528 ve *I. typographus*'un zarar yaptığı, Şavşat Orman İşletme Şefliği 110 nolu bölmenin koordinatları ise Y-278242, X-4571130 olarak tespit edildi. Zarar gören çalışma sahasının meşcere tipi; Lc3-1, Lc3-2, Çsbc-2 ve Mab3. Meşceredeki ağaçlar II (20-40 yaşında), III (40-60 yaşında) ve IV (60-80 yaşında) yaş sınıfında, İşletme Amacı Toprak koruma J (Ladin + Sarıçam İşletme Sınıfı), İşletme Amacı Doğayı Koruma (Meşe + Ladin + Sarıçam İşletme Sınıfı), D (Meşe İşletme Sınıfı) işletme sınıfında, işletmenin amacı toprağı ve doğayı korumaktır. Meşcere iki kapalı orta ve ince ağaçlardan oluşan ladin, sarıçam ve meşe genç meşcereleri olup 52,4 hektardır. Meşcerede böcek salgını nedeniyle ölen ağaçlar çıkarılmaktadır.

Çalışma alanının bulunduğu Şavşat ve Veliköy Orman İşletme Şeflikleri, Doğu Karadeniz Bölgesi içinde kalır ve işletmenin topoğrafik yapısı genel olarak dağlıktır. Dağlar doğu batı istikametinde uzanır. Şeflikler Şavşat İlçesine 0-20 km mesafededir. Coğrafi olarak işletme şeflikleri Karadeniz Bölgesinde, Artvin İli sınırları içerisinde kalmaktadır. Şavşat'tan Artvin Şehir merkezine uzaklığı 68 km dir. En yakın İl merkezi Ardahan olup 53 km dir. Şefliklerin jeolojik ve mineorolojik yapısı, kuzeyi üçüncü zamana ait olup anakaya andezit, split, porfir, bazalt ve doleritten oluşmaktadır. Güneyi ise ikinci zamanın devresine ait olup volkaniktir (Anonim, 3).

2019 yılı ve 2020 yılının Ocak ayında, 100 ve 110 nolu bölmedeki kuru ve yarı kuru ağaçlar incelenmiş, böceklerin odunda bıraktığı ana yollara göre zararlı böceklerin tür tespitleri de yapılmıştır. *Ips typographus*'un zarar yaptığı bu iki bölmedeki ağaçların %10'u yarı kuru böcekli ve %30'u tamamen kuru olmak üzere, bölmelerin %40'ını böcekli ağaçlar oluşturmaktadır. Ayrıca yarı kuru ağaçların kabuk altlarından alınan ergin kabuk böcekleri, plastik kaplarla Artvin Bölge Müdürlüğüne bağlı, biyolojik mücadele laboratuvarına getirilerek, mikroskop altında incelenerek türlerin tespiti yapılmıştır.

Ladin ağaçlarının yoğun kuruma gösterdiği sahalara ile sağlıklı sahalardan tahlil için toprak örnekleri alınmıştır. Toprak örnekleri 1050 ile 1250 metre yükseklikten 10 adet sağlıklı ve 10 adet de 950 ile 1110 metre yükseklikteki kurumaların yoğun olduğu alanlardan toprak çukurları açılarak alınmıştır. 0-20 cm derinlikte, toplam 20 noktadan yaklaşık 40 kg toprak örneği alınarak, Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi toprak laboratuvarında, topraklardaki pH değeri, kum, kil, toz ve organik madde tahlilleri yapılmıştır. Toprakların tekstür

ayını Bouyoucos'un hidrometre yöntemine göre yapılmıştır (Bouyoucos, 1951). Toprak örneklerinin organik madde miktarı 0,2 mm'lik elekten geçirilmiş 0,5 gr'lık örnekler üzerinden Walkley - Black' in ıslak yakma yöntemine göre yapılmıştır (Irmak, 1972; Gülçür, 1974). Toprak örneklerinin pH' ısı 1/2,5 oranında toprak-saf su karışımında Orion 420 A dijital pH metresi ile ölçülmüştür (Gülçür, 1974).

Çalışma alanına ait meteorolojik veriler (sıcaklık ve yağış) Artvin Meteoroloji İstasyonu'ndan alınmış olup, kurumaların olduğu, 2008-2009 yılı ve 2018-2019 yıllarındaki iklim verileri de karşılaştırılmıştır. Karadeniz Bölgesinin nemli iklim ve Doğu Anadolu'nun karasal iklim arasındaki geçiş zonunda yer alan Şavşat, Doğu Karadeniz Bölgesinde hüküm süren iklim koşullarının genel özelliklerini göstermektedir. İklimin karakteristiği, kışların ılık, yazların sıcak ve çok yüksek yağışların sıkça görülmesidir. İlçenin yıllık toplam yağış miktarı 698,7 mm, yağışın en yüksek olduğu ay Aralık (91,2 mm), en düşük olduğu ay ise Ağustos (29,4 mm) tur. İlçenin yıllık ortalama sıcaklığı 12,2°C dir. En yağışlı mevsim kış (445 mm) iken en kurak mevsim ise yazdır (276 mm). Bölgenin yağış rejimi; yaz kuraklığı Akdeniz rejiminde olduğu kadar şiddetli olmamakta ve en yağışlı devre kış mevsimine rastlamaktadır. İlkbahar ve sonbahar yağışları arasındaki fark Akdeniz Bölgesi'nden daha az olmakla birlikte Akdeniz ve Karadeniz rejimleri arasındaki geçiş tipi ifadesine uymaktadır. Her mevsimi yağışlı Karadeniz iklimi ile kara iklimi arasında bir geçiş bölgesi karakteri taşımaktadır (Anonim, 1).

BULGULAR VE TARTIŞMA

Kurumaların yoğun olduğu alanlarda tespit edilen *Dendroctonus micans*, *Ips sexdentatus* ve *Ips typographus*'un yoğun olarak bulunduğu görülmüştür. Bu türlerin yanı sıra, ülkemiz ladin ormanlarında son yıllarda tespit edilen *Ips amitinus* (Eichhoff), *Ips cembrae* (Heer) ve *Ips duplicatus* (Sahlberg) türlerinin de varlığı belirlenmiştir. Bu kabuk böcekleri birinci zararlı konumunda değildir, ancak *Ips typographus* ile birlikte bulunmakta ve *Ips typographus*'un ve diğer kabuk böceklerinin zayıf düşürdüğü ağaçlara giderek, ağaçların ölümüne katkı sağlamaktadırlar (Aksu vd., 2014).

Toplu ağaç ölümlerinin olduğu sahalarda, 950-1110 metre yükseklikte bulunan 100 ve 110 nolu bölmeler için meteorolojik veriler incelendiğinde, 2008 yılında aylık ortalama minimum sıcaklık 8,5°C, 2009 yılında 8,9°C de iken, 2018 yılında 10,1°C, 2019 yılında ise 10,0°C arasında ölçülmüştür. 2008 yılında aylık maksimum sıcaklık 25,5°C, 2009 yılında 24,9°C iken, 2018 yılında 28,0°C, 2019 yılında 26,9°C olarak ölçülmüştür. Bu verilere göre 2019 yılında sıcaklığın artış göstermesi sonucu, kabuk

böceklerinin biyolojilerini etkileyerek generasyon sayısının artmasına neden olmuştur. 2008 yılında yıllık ortalama yağış miktarı 600,4 mm, 2009 yılında 888,2 mm iken, 2018 yılında 576,4 mm, 2019 yılında ise 426,5 mm olduğu görülmektedir. Buna göre, çalışmanın yapıldığı alanda 2019 yılında yağış miktarının düştüğü belirlenmiştir (Tablo 1).

Yağışlar sonucu topraktaki su durumu ile zararlı kabuk böceklerinin saldırılarına karşı ağaçların göstereceği direnç arasında doğrusal bir ilişki vardır (Nageleisen 2004a,b). Kurak ve sıcak hava dalgaları; ağaçların biyotik ve abiyotik nedenlerle zayıf düşürülmesinde en önemli paya sahiptir. Bazı Avrupa ülkelerindeki plantasyonlarda ağaç türlerinin seçiminin isabetsiz olduğu, 2003 yılında görülen kuraklık sırasında anlaşılmıştır (Belrose vd., 2004; Rouault vd., 2006).

Tablo 1. Artvin İli 2000-2019 Yılları Arasındaki Meteorolojik Değerler.

Table 1. Meteorological Values Between 2000 and 2019 in Artvin Province.

Yıllar	Meteorolojik Değerler (Aylık Ortalama)				Ortalama Yağış (mm)
	Ortalama Minimum Sıcaklık (°C)	Ortalama Maksimum Sıcaklık (°C)	Aylık Ortalama Sıcaklık (°C)	Ortalama Nispi Nem (%)	
2000	8,3	24,7	11,8	11,8	548,5
2003	8,1	25,2	11,7	11,7	738,5
2008	8,5	25,5	12,4	12,4	600,4
2009	8,9	24,9	12,7	12,7	888,2
2018	10,1	28,0	14,5	14,5	576,4
2019	10,0	26,9	13,7	13,7	426,5

Artvin ladin ormanlarında *Ips typographus*'un epidemi yaptığı 2003 yılı öncesi 2000 yılında yıllık ortalama yağış miktarı 548,5 mm olmuştur. 2000 yılı ile 2019 yılları arasındaki yağış değerleri karşılaştırıldığında, 2009 yılında yıllık ortalama yağış miktarının 888,2 mm olduğu ve bu yıllarda ladinlerin sağlığında 2003 yılı oranla bir problem görülmemiştir. Ancak 2019 yılında ortalama yağış miktarının, 2000 yılındaki değerlere yakın olduğu, 2009 yılına oranla 461,7 mm daha az yağış aldığı tespit edilmiştir. 2018 yılında mayıs ayında metre kareye 65,6 mm, Haziran ayında 42,3 mm, 2019 yılında Mayıs ayında 45,4 mm, Haziran ayında 26,3 mm yağış alması nedeniyle, 2018-2019 yıllarında Artvin Şavşat ladin ormanlarının daha az yağış aldığı ve 2018 yılı mayıs ayı aylık ortalama sıcaklığın 18,4°C, Haziran ayında 21,1°C ve 2019 yılında Mayıs ayında ortalama aylık sıcaklığın 18,1°C, Haziran ayında ise 22,4°C sıcaklığa ulaştığı için, ladin ormanlarının bu olumsuz şartlardan etkilendiği düşünülebilir.

Feromon tuzaklarına yakalanan *Ips typographus* yoğunluğu incelendiğinde; 1984 yılından itibaren en ciddi epidemisini 2003 yılında yapmıştır. *I. typographus* 1998-2007 yılları arasında 617268 metre küp ladin ağacını kurutmuştur. *I. typographus*'a karşı yürütülen biyoteknik mücadele çalışmalarında, 2003-2011 yılları arasında zararlının en yoğun olduğu 65769 hektarlık alana 102902

adet feromon tuzağı asılarak 303617500 adet *I. typographus* ergini tuzaklara çekilerek imha edilmiştir. 2003 yılında ortalama bir tuzağa 4642 adet ergin düşerken, 2012 yılında bir tuzağa 1087 adet ergin böcek düşmüştür. 2018 ve 2019 yıllarında toplam 6060 adet feromon tuzağı asılarak, yaklaşık 19594500 adet ergin *I. typographus* ergini toplanmıştır. 2018 yılında Şavşat Orman İşletme Müdürlüğü ladin ormanlarına 600 adet feromon tuzağı asılarak, toplam 2856413 adet, 2019 yılında toplam 750 adet feromon tuzağı asılarak toplam 2730000 adet *I. typographus* ergini tuzaklara çekilerek imha edilmiştir. Şavşat İşletme Müdürlüğünde 2018 yılında bir tuzağa ortalama 4761, 2019 yılında ise 3640 adet ergin böcek düşmüştür (Anonim 2). 2018 yılında bir tuzağa düşen *I. typographus* adedinin, 2003 yılındaki tuzak ortalamasının üstüne çıktığı, 2019 yılındaki tuzak ortalamasının ise 2003 yılındaki tuzak ortalamasına yaklaştığı tespit edilmiştir. *I. typographus* bu çalışmalar sonucunda 2012 yılında doğal denge sınırına çekilmişken, 2018 ve 2019 yıllarındaki yukarı doğru hareketliliğin, doğal olayların bir sonucu olarak, kuraklık ve buna bağlı, topraktaki bazı maddelerin alımının azalması belirleyici bir sebep olarak düşünülebilir.

Orman ağaçlarında görülen olumlu ve olumsuzlukların asıl nedenleri arasında toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri öne çıkmaktadır. Doğu Karadeniz ladin sahalarında genel olarak kumlu ve balçıklı topraklar görülmektedir. Doğu ladininin bu tip hafif toprakları daha fazla tercih ettiğini söylemek mümkündür (Akgül, 1975). Çalışmanın yürütüldüğü orman alanlarında, toprak profilleri alınarak yapılmış olan fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları Tablo 2 ve 3'de verilmiştir.

Tablo 2. Sağlıklı sahadan alınan toprak numunelerinin analiz değerleri.

Table 2. Some soil properties in healthy stands.

Deneme No	Yükselti	pH	Org. Mad.	Kum %	Kil %	Toz %	Toprak Türü
1	1050	5,89	5,96	70,32	29,12	0,57	Kumlu Kil
2	1050	6,14	6,37	57,04	30,37	12,59	Kumlu Kil
3	1050	6,2	6,68	60,66	32,72	6,62	Kumlu Kil
4	1150	6,08	6,01	58,19	22,66	19,15	K. Killi Balçık
5	1150	6,69	6,43	53,87	27,1	19,03	Hafif Kil
6	1250	6,04	4,43	56,75	20,25	23	Killi Balçık
7	1250	6,65	4,67	71,91	13,02	15,08	Kumlu Balçık
8	1250	5,99	6,72	67,8	13,93	18,28	Kumlu Balçık
9	1250	5,51	4,66	71,82	13,88	14,3	Kumlu Balçık
10	1250	5,73	2,91	76,03	17,8	6,18	K. Killi Balçık
Ortalama		6,09	5,48	64,44	22,08	13,48	

Org. Mad.: Organik Madde, K.: Kumlu.

Tablo 3. Yoğun kurumaların olduğu sahadan alınan toprak numunelerinin analiz değerleri.

Table 3. Some soil properties in bark beetle infected stands.

Deneme No	Yükselti	pH	Org. Mad.	Kum %	Kil %	Toz %	Toprak Türü
1	1110	6,13	6,48	64,7	14,98	20,31	Balçık
2	1100	6,83	6,43	60,92	20,12	18,95	K. Killi Balçık
3	1110	5,72	6,45	50,62	27,52	21,86	Hafif Kil
4	1100	5,92	5,1	46,16	28,82	25,02	Hafif Kil
5	1110	6,03	6,8	57,24	22,63	20,12	Killi Balçık
6	975	5,47	5,2	29,82	48,05	22,13	Ağır Kil
7	975	6,63	5,97	43,21	38,2	18,59	Hafif Kil
8	950	5,61	2,59	53,02	26,78	20,2	Hafif Kil
9	950	5,81	5,61	54,87	35,37	9,76	Hafif Kil
10	975	5,97	5,14	54,59	26,89	18,52	Hafif Kil
Ortalama	1110	6,01	5,58	51,52	28,94	19,55	

Org. Mad.: Organik Madde, K.: Kumlu.

Yapılan tahliller sonucunda, sağlıklı sahalardan alınan topraklarda organik madde miktarın ortalama %5,48, pH değeri 6,09, kum değeri %64,44, kil değeri %22,08 ve toz değeri %13,48 dir. Kurumaların yoğun olduğu sahalardan alınan topraklarda ise organik madde miktarı ortalama %5,58, pH değeri 6,01, kum değeri %51,52, kil değeri %28,94 ve toz değeri %19,55 olarak tespit edilmiştir.

Tahlil sonuçlarına göre, ladin ağaçlarının sağlıklı olduğu yerlerdeki topraklarda ortalama kum değeri %64,44 iken, hastalıklı olan alanlardaki ortalama kum değeri ise %51,52 olmuştur. Hastalıklı olan sahalarda kum oranının sağlıklı sahalara oranla düşük olması, kum bakımından zengin olan toprakların daha iyi havalanması ve ağaçların toprağın daha derin katmanlarına köklerini geliştirmelerine imkan vermektedir. Bu durum, ağaçların kurak devrede derin toprak katmanlarından su alarak stresten daha az etkilendikleri ihtimalini güçlendirmektedir. Topraklardaki kil miktarı sağlıklı ladin ağaçlarının görüldüğü alanlarda ortalama %22,08 iken, hastalıklı bireylerin olduğu alanlarda bu değer ortalama %28,94 olmuştur. Kurumaların yoğun olduğu sahalarda kil miktarının, sağlıklı ladin ağaçlarının bulunduğu sahalara oranla artış göstermesi, muhtemelen toprakta kötü havalanma koşulları oluşturmuş ve köklerin derin toprak katmanlarına ulaşmasını engellemiştir. Derin toprak kısmından su alamayan ladin ağaçlarının da daha fazla strese girmiş olabileceği sanılmaktadır. Toprak türünün genellikle kumlu kil ve balçık olduğu, toprak pH'sının genellikle hafif asit, nadiren orta derece asit veya nötr olduğu, kireç kapsamı bakımından az kireçli olarak sınıflandırıldığı, organik madde bakımından ise toprağın üst katmanlarının (0-20 cm) orta derece organik madde içeriğine sahip tuzsuz topraklar olduğu anlaşılmaktadır.

Çalışma sahasından alınan toprak numunelerinin (0-20 cm) fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi sonucunda, sağlıklı ve kurumaların yoğun olduğu sahalarda kumlu killi balçık, kumlu killi, hafif killi, killi balçık, balçık, ağır killi ve kumlu balçık türündeki araştırma sahaları toprakları nötr ve hafif asitli reaksiyona sahiptir. Ortalama kum, toz ve kil oranları bakımından sağlıklı sahalarda sırasıyla, %64,44, %13,48 ve %22,08. Kurumaların yoğun olduğu sahalarda, %51,52, %19,55 ve %28,94 dur. Toprak reaksiyonu ortalama (pH) değerleri 6,01-6,09 arasında olması hafif asitli sınıfta olduğu, bu pH derecelerinde bitki besin elementlerinin, bitkiler tarafından alınmada herhangi bir sorun bulunmamaktadır. Toprağın organik madde bakımından (%5,48 ve %5,58) yüksek olduğu görülmektedir. Toprak türünün genellikle sağlıklı sahalarda kumlu kil ve kumlu balçık, kurumaların yoğun olduğu sahalarda ise hafif killi olduğu, toprak pH'nın genellikle her iki deneme sahasında da hafif asitli

olduğu, nadiren nötr olduğu, organik madde bakımından zengin olduğu anlaşılmıştır.

Bu konuda yapılan araştırmalarda, ince tekstürlü toprakların üst tabakalarında daha çok su tutulur ve buharlaşmaya maruz kalan üst toprak tabakalarından daha fazla su kaybı olabilmektedir. Ağaçların topraktan alabileceği su miktarının azalması, ağaç gelişimini olumsuz etkileyen bir faktördür. Kuraklık ve su stresinin böcek salgınlarıyla ilişkisi konusunda yapılmış bazı araştırmalar da bu duruma işaret etmektedir (Christiansen ve Bakke 1997; Hanks vd.,1999; Williams ve Liebhold, 2002; Bentz vd., 2010; Öner vd., 2010; Şimşek vd., 2010a; Sarıkaya ve Yıldırım, 2011; Laz vd., 2018).

Özellikle kabuk böceği zararı görülen alanlardaki üst toprağın besin maddeleri bakımından zengin nitelikte olması, ağaçların gelişimi açısından olumlu bir durum olmaktadır. Oysa fakir topraklardaki ağaçlar, ihtiyaç duyduğu madde alımı yeterli olmadığından kabuk böceklerine karşı daha hassas duruma gelecektir. *Ips typographus*'un epidemisi oluşturduğu alandaki toprak yapısının ve su durumunun bu salgında rolü olduğu düşünülmektedir. Strese bağlı olarak orman ağaçlarının kabuk böceği saldırılarına karşı daha hassas olduğu da ifade edilmektedir (Akkuzu ve Güzel, 2015). Dünyada yapılan bir çok çalışmada orman zararlısı kabuk böceklerinin oluşturduğu salgının kuraklık ve orman toprak özellikleriyle ilişkili olduğu belirtilmektedir (Dobbertin vd., 2007; Vilhar, 2016).

Kuraklığa maruz kalan ağaçlarda zararlı böceklerden etkilenme, hastalıklara yakalanma durumları daha fazla görülebilmektedir. Sağlıklı ladin, çam ve göknar ağaçlarının kabuk böceklerine karşı kullandıkları en önemli savunma silahı salgıladıkları reçinelerle kabuk böceklerinin girişini engellemeleridir (Göktürk ve Aksu, 2011). Ağaçların reçine üretimlerini su tüketerek yaptıkları dikkate alındığında kuraklık durumunda ağacın yeteri miktarda reçine üretmediği görülmekte bu da bu tür ağaçların böcek ve hastalıklara daha hassas duruma gelmesine neden olmaktadır.

Ladin bireylerinin sağlıklı olduğu yerlerdeki topraklarda ortalama pH değerleri 6,09 iken, ağaç kurumalarının yoğun olduğu alanlarda ortalama pH değeri ise 6,01 olmuştur. Yoğun kurumaların olduğu sahalarda ve sağlıklı sahalardaki pH değerleri arasında fazla bir fark yoktur. Ladin, pH değeri 5,5 ve 6,5 değerleri arasındaki orta asitli topraklarda daha iyi gelişme gösterirler (Akgül, 1975). Ladin bireylerinin sağlıklı olduğu yerlerdeki topraklarda ortalama organik madde değeri %5,48 iken, hastalıklı olan alanlardaki ortalama organik madde değeri %5,58 olmuştur. Bu noktada da organik madde miktarının artması toprakların su tutma kapasitesini ve nemliliğini artırması gerekirken yağışların istenilen düzeyde

olmadığından ladinlerin su ihtiyacını karşılayamadığı düşünülmektedir (Tablo 2, 3).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışma alanında, önceki yıllarda yoğun olarak *D. micans* ve *I. typographus*'un zararına uğramış ve uygulanan mücadele yöntemleri ile doğal denge sınırına indirilmiştir. Doğal olaylardan kaynaklanan sorunlar (kuraklık, sıcaklık ve topraktaki değerlerin değişmesi vb.) kabuk böceğinin yeniden popülasyon artışı yapmasına neden olmuştur.

Ağaç ölümlerinin yoğun olduğu sahalarda, balçıklı toprak oranının az olması nedeniyle, bu tipteki toprakları ladinlerin fazla tercih etmediği, ayrıca hafif killi topraklarda da ağaç ölümlerinin çoğaldığı, buna karşılık kum oranının fazla olduğu toprak türü, kumlu kil, kumlu balçıklı topraklardaki ağaçların sağlıklı olduğu görülmüştür.

Sahalardan alınan toprak tahlilleri sonucunda, ladin ağaçlarının sağlıklı olduğu yerlerdeki topraklarda ortalama kum değeri %64,44, hastalıklı olan toprakta kum değeri ise %51,52 olarak tespit edilmiştir. Kurumaların yoğun olduğu sahalarda, kurumaların az olduğu sahalara kıyasla, kum oranı nispeten düşük, kil oranı ise yüksektir. İyi havalandırılan kumlu topraklarda ağaçlar köklerini daha derin toprak katmanlarına gönderebilmekte ve kurak devrelerde derindeki suyu kullanabilmektedir. Ağır bünyeli killi topraklarda havalandırma sorunu yüzünden ağaçlar derin toprak katmanlarına çoğu zaman kök geliştirememektedir. Bu durum onları kuraklık stresine karşı daha hassas hale getirmektedir. Kurak mevsimlerde toprak yapısını da dikkate alarak, kabuk böcekleriyle, özellikle dünyanın en tehlikeli kabuk böceği olarak kabul edilen *I. typographus* ile mutlaka mücadele edilmelidir. Özellikle yağışın az olduğu kurak mevsimlerde mücadele yöntemlerinin tümünün eksiksiz ve zamanında yapılmasına özen gösterilmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Makalede tespit edilen böceklerin teşhisi ve feromon tuzaklarının değerlendirilmesinde vermiş olduğu destekten dolayı Biyolog Yaşar Aksu'ya teşekkür ederim.

KAYNAKLAR

Akgül, E. (1975). Türkiye'de Doğu Ladininin (*Picea orientalis* Link ve Carr.) yayılış sahası, topraklarında tespit edilen başlıca özelliklerle bunlar arasında ilişkiler. *Ormancılık Araştırma Enstitüsü Teknik Bülteni*, Seri No: 71. Ankara.

Akkuzu, E. & Güzel, H. (2015). Edge effects of *Pinus nigra* forests on abundance and body length of *Ips sexdentatus*. *Izvorni znanstveni članci*, **9**(10), 447-453.

Aksu, Y. & Göktürk, Ç.B. (2008). *Picea orientalis* ormanlarında zarar yapan *Pristiphora abietina* (Christ) (Hymenoptera: Tenthredinidae)'nin biyolojisi, morfolojisi ve mücadelesi üzerine yapılan araştırma. *Orman Mühendisleri Dergisi*, **45**(11), 35-39.

Aksu, Y. (2011). *Rhizophagus grandis* Gyll.(Coleoptera: Rhizophagidae)'nin biyolojisi, laboratuvar şartlarında üretim yöntemleri, ormanlara verilmesi, yapılan mücadele ve alınan sonuçlar. Süleyman Demirel Üniversitesi Orman Fakültesi, Türkiye 1. Orman Entomolojisi ve Patolojisi Sempozyumu, Kasım 2011, Antalya. *Bildiriler Kitabı*, 73-79.

Aksu, Y., Dedeğaoğlu, C. & Göktürk, Ç.B. (2014). Doğu Karadeniz ladin (*Picea orientalis*) ormanlarının eski ve yeni zararlı kabuk ve yaprak böcekleri. *Orman ve Av Dergisi*, **5**, 24-27.

Anonim. 1. Orman Genel Müdürlüğü arşivleri. www.ogm.gov.tr. Erişim tarihi; 03.04.2020

Anonim. 2. Artvin Orman Bölge Müdürlüğü Koruma Şube Müdürlüğü arşiv verileri (Basılmamış)

Anonim. 3. Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Şavşat Orman İşletme Müdürlüğü Ekosistem Tabanlı Fonksiyonel Orman Amenajman Planı 2013-2023. Ankara 2013. (Basılmamış)

Bentz, B.J., Régnière, J., Fettig, C.J., Matthew Hanse, E., Hayes, J.L., Hicke, J.A., Kelsey, R.G., Negron, J.F. & Seybold, S.J. (2010). Climate change and bark beetles of the Western United States and Canada: Direct and indirect effects. *BioScience*, **60**, 602-613.

Bouyoucus, G.Y. (1951). A calibration of the hydrometer for making mechanical analysis of soils. *Agronomy Journal*, **43**(5), 434-438.

Christiansen, E. & Bakke, A., (1997). *Integrating cultural tactics into the management of bark beetle and reforestation pests*. In: Grégoire, J.C., Liebhold, A.M., Stephen, F.M., Day, K.R., Salom, S.M. (Eds.), General Technical Report. *USDA Forest Service*, 163-171pp.

Coşkun, K.A., Aksu, Y. & Göktürk, Ç.B. (2010). *Picea orientalis* ormanlarında zarar yapan *Ips typographus* L. (Coleoptera: Scolytidae)'nin biyolojisi, morfolojisi, yayılışı, zararı, yapılan mücadele çalışmaları ve alınan sonuçlar üzerine araştırmalar. Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi, III. Ulusal Karadeniz Ormancılık

- Kongresi, Mayıs 2010, Artvin, Bildiriler kitabı, IV. Cilt, Sayfa: 1309-1317,
- Dobbertin, M., Wermelinger, B., Bigler, C., Bürg, M., Carron, M., Forster, B., Gimmi, U. & Riglin, A. (2007)** Linking increasing drought stress to Scots Pine mortality and bark beetle infestations. *The Scientific Word Journal*, 7, 231-239.
- Keskinalemdar, E., Aksu, Y. & Alkan, Ş. (1986).** *Rhizophagus grandis* (Gyll)'in laboratuvar şartlarında üretimi ve biyolojik mücadele uygulamalarında kullanılması olanakları üzerine araştırmalar. Türkiye 1. Biyolojik Mücadele Kongresi. Şubat 1986, Adana, Bildiriler kitabı, 195-205.
- Keskinalemdar, E., Alkan, Ş. & Aksu, Y. (1987).** Artvin ilinde *Ips typographus* L. (Coleoptera: Scolytidae)'in biyolojisi ve mücadelesi üzerine çalışmalar. Türkiye 1. Entomolojisi Kogresi, İzmir, 1987, Bildiriler kitabı, 737-742.
- Gokturk, T. & Aksu, Y. (2011).** Use of pheromone traps against *Tomicus piniperda* and *Tomicus minor* in the Kazbegi National Park, Georgian Republic. *African Journal of Agricultural Research*, 6(10), 2430-2435.
- Gokturk, T., Kordali, S., Çalmasıur, O. & Tozlu G (2011)** Insecticidal effects of essential plant oils against larvae of Great Spruce Bark Beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Fresenius Environmental Bulletin*, 20(9), 2365-2370.
- Göktürk, T. (2009).** Artvin ilinde orman ağaçlarında yaşayan Coleoptera (Insecta) türleri., *Ecological Life Sciences*, 4(3) 121-133.
- Gülçur, F. (1974).** *Toprağın fiziksel ve kimyasal analiz metotları*. İ.Ü. Orman Fakültesi Yayınları, No: 201, İstanbul.
- Hanks, L.M., Paine, T.D., Millar, J.G., Campbell, C.D. & Schuch, U.K. (1999).** Water relations of host trees and resistance to the phloem-boring beetle *Phoracantha semipunctata* F. (Coleoptera: Cerambycidae). *Oecologia*, 119, 400-407.
- <https://artvinobm.gov.tr/site>.
- İrmak, A, (1972).** *Toprak ilmi*. İÜ Orman Fakültesi Yayınları, No. 184, İstanbul.
- Laz, B., Babür, E., Akpınar, D.M. & Avgın, S.S. (2018).** Kahramanmaraş-Elmalar yeşil kuşak ek-3 plantasyon sahasında görülen biyotik ve abiyotik zararlıların tespiti. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(6) 926-935.
- Nageleisen, L.M. (2004a).** Les insectes sous-corticaux des résineux en 2002: diminution inattendue des dommages dus aux scolytes. Min.Agri. Alim. Pêche Aff. Rur. (DGFAR), Paris.
- Nageleisen, L.M. (2004b).** Recrudescence des insectes sous-corticaux à la suite des extrêmes climatiques de 2003, in: Bilan de lasanté des forêts en 2003, Min. Agri. Alim. Pêche Aff. Rur., Paris.
- Öner, N., Şimşek, Z., Kondur, Y., İmal, B. & Şimşek, M. (2010).** *Küresel iklim değişikliği dikkate alınarak kurak ve yarıkurak alanların ağaçlandırılması ve zararlı böceklerle mücadelesine yönelik öneriler (Çankırı ili örneği)*. In, III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Artvin, *Bildiriler kitabı*, 827-838.
- Özkaya, M.S., Aksu, Y. & Göktürk, Ç.B. (2010)** *Picea orientalis* ve *Pinus sylvestris* ormanlarında zarar yapan *Ips sexdentatus* (Boerner), (Coleoptera: Scolytidea)'ın biyolojisi, morfolojisi, yayılışı, zararı, yapılan mücadele çalışmaları ve alınan sonuçlar üzerine araştırmalar. Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi, III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Mayıs 2010, *Bildiriler kitabı*, IV. Cilt, 1318-1326.
- Özkaya, M.S., Aksu, Y. & Tuylu, N. (2010).** *Picea orientalis* ormanlarında *Ips typographus*'un mücadelesi için kullanılan feromon tuzaklarına düşen predatör böcek türlerinin tespiti üzerine araştırmalar. III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Mayıs 2010, *Bildiriler kitabı*, IV. Cilt, 1301-1308.
- Sarıkaya, O. & Yıldırım, S. (2011).** Isparta-Aksu Yöresi İğne Yapraklı Ormanlarının Scolytinae (Coleoptera: Curculionidae) Türleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 13, 38-50.
- Sarıyıldız, T., Akkuzu E., Küçük M., Duman A. & Aksu Y. (2008).** Effects of *Ips typographus* (L.) damage on litter quality and decomposition rates of Oriental Spruce (*Picea Orientalis* (L.) Link.) in Hatila Valley National Park, Turkey, *European Journal of Forest Research*, 127(5), 429-440 (2008).
- Sarıyıldız, T., Akkuzu, E., Tüfekçioğlu, A., Tilki, F., Güner, S., Aksu, Y., Küçük, M. & Duman, A. (2010).** *Doğu Ladini ormanlarının Ips typographus saldırısına maruz kalmasında yetiştirme ortamı ve meşcere özelliklerinin etkisi*. III. Ulusal Karadeniz Ormancılık Kongresi, Mayıs 2010 Artvin, Bildiriler kitabı, Cilt IV, 1291-1300.
- Semerci, A., Çelik, O., Şanlı, B., Şahin, Ö., Eczacıbaşı, B. & Argun, N. (2006).** *İç Anadolu Bölgesinde son beş yılda incelenen bazı ağaç kurumalarının nedenlerinin incelenmesi ve çözüm önerileri*. Türkiye'de yarıkurak bölgelerde yapılan ağaçlandırma ve erozyon kontrolü uygulamalarının değerlendirilmesi çalışmayı, 7-10 Kasım 2006, Ürgüp, Nevşehir, 52-53s.

- Şimşek, Z., Kondur, Y. & Şimşek, M. (2006).** Küresel iklim değişikliğinin zararlı böcekler üzerine olası etkileri. In, *IV. Çankırı kültürü bilgi şöleni*, Çankırı, pp. 87-125.
- Şimşek, Z., Kondur, Y. & Şimşek, M. (2010a).** Küresel iklim değişikliğinin kabuk böcekleri üzerinde beklenen etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, **3**, 149-157.
- Şimşek, Z., Öner, N., Kondur, Y. & Şimşek, M. (2010b).** Kuraklığın orman biyoçeşitliliği üzerine etkileri ve gelecekte alınması gereken önlemler. Çölleşme ile mücadele sempozyumu, Çorum, Türkiye, 514-521.
- Vilhar, U. (2016).** Comparison of drought stress indices in beech forests: a modelling study. *Forest Biogeosciences and Forestry*, **9**, 635-642.
- Williams, D.W. & Liebhold, A.M. (2002).** Climate change and the outbreak ranges of two North American bark beetles. *Agricultural and Forest Entomology*, **4**, 87-99
- Yüksek, T. (2017).** Rize İli Arazi Kullanım Durumu, Bazı Ormancılık Çalışmaları ve Yağışların Zamansal Dağılımının Genel Bir Değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **2(3)**, 59-66.



Weight - Length Relationships (WLRs) of Anchovy, *Engraulis encrasicolus* with the Evaluation of Overfishing Effects on the Slope (b) in the Black Sea (Turkey)

Sabri BILGIN^{1*} Ebru SOLAK²

¹Sinop University Faculty of Fisheries and Aquaculture, TR57000, Sinop, Turkey.

²Recep Tayyip Erdoğan University Faculty of Fisheries and Aquaculture, TR53000, Rize, Turkey.

Geliş/Received: 25.04.2020

Kabul/Accepted: 31.05.2020

How to cite: YAZAR. & YAZAR. (2020). Weight - Length Relationships (WLRs) of Anchovy, *Engraulis encrasicolus* with the Evaluation of Overfishing Effects on the Slope (b) in the Black Sea (Turkey). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 253-259.

Atıf yapmak için: YAZAR. & YAZAR. (2020). Karadeniz'de (Türkiye) Hamsi Balığı'nın, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) (Clupeiformes: Engraulidae) Ağırlık-Boy (WLRs) İlişkisi ile Av Baskısının Eğim Parametresi (b) Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 253-259.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-0155-8981>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-8701-8099>

*Corresponding author's:

Sabri BILGIN
Sinop University Faculty of Fisheries and
Aquaculture, TR57000, Sinop, Turkey.
✉: srbilgin@hotmail.com
Telephone : +90 (368) 287 62 54 (3391)
Fax : 90 (368) 287 62 69

Abstract: The present study was conducted to determine the weight-length relationships (WLRs) of Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) caught by purse seine off the Rize and Trabzon provinces coasts of the southeastern Black Sea, Turkey and to compare as a whole the WLRs parameters of *E. encrasicolus* obtained from different fishing seasons and locality for contributing fisheries management of this Black Sea' key fish species. The WLRs parameters showed that *E. encrasicolus* exhibited negative allometric growth characteristics for both sexes (Pauly't test, $P < 0.05$). To compare the estimations calculated from the present study with other studies, $\log(a)$ values were plotted against values of slope (b), proved to be consistent with previous studies data. In addition to this, when the WLRs parameters (b) of Anchovy is evaluated historically, it has been determined that the Anchovy exhibited positive allometric growth in the mid-1985, isometric growth from 1990 to 2000 and negative allometric growth after the 2000s. The overexploitation on anchovy stocks has shown itself in fish growth over the years. This study provides new basic information on the WLRs for Anchovy stocks, in support of sustainable fisheries management of this species and especially of the coastal waters in the Black Sea, Turkey.

Keywords: Anchovy, Black Sea, *Engraulis encrasicolus*, fisheries management, weight-length relationships (WLRs).

Karadeniz'de (Türkiye) Hamsi Balığı'nın, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) (Clupeiformes: Engraulidae) Ağırlık-Boy (WLRs) İlişkisi ile Av Baskısının Eğim Parametresi (b) Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi

Öz: Bu çalışma, hamsi (*Engraulis encrasicolus*) balığının boy ağırlık ilişkisi (WLRs) parametrelerini belirlemek için güney doğu Karadeniz'de Rize ve Trabzon illeri civarında gırgır ağları ile örneklenen bireyler üzerinden yürütülmüş olup ayrıca bu anahtar balık türünün Karadeniz'deki balıkçılık yönetimine katkı sağlamak amacıyla daha önce farklı av sezonlarında yürütülmüş çalışmalardan elde edilen WLRs parametreleri bir bütünlük içerisinde karşılaştırılmıştır. WLRs parametreleri dişi ve erkek bireylerin negatif allometrik büyüme (Pauly t-test, $P < 0,05$) özelliği gösterdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca, önceki çalışmalardan elde edilen $\log(a)$ ve b değerleri regresyona tabi tutulduğunda, bu çalışmada elde edilen sonuçların önceki çalışmalarla tutarlı olduğu belirlenmiştir. WLRs denklemi parametresi (b) tarihsel olarak değerlendirildiğinde, Hamsi balığının 1985 ortalarında pozitif allometrik büyüme, 1990-2000 arasında izometrik büyüme ve 2000'lerden sonra ise negatif allometrik büyüme sergilediği tespit edilmiştir. Hamsi stoklarındaki aşırı sömürü, yıllar boyunca balık büyümesinde kendini göstermiştir. Bu çalışma, Türkiye'nin Karadeniz kıyı sularında Hamsi stoklarının sürdürülebilir balıkçılık yönetimini desteklemek için türün boy ağırlık ilişkisi hakkında yeni temel bilgiler sunmaktadır.

*Sorumlu yazar:

Sabri BILGIN
Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
57000, Sinop, Türkiye.
✉: srbilgin@hotmail.com
Telephone : +90 (368) 287 62 54 (3391)
Fax : +90 (368) 287 62 69

Anahtar kelimeler: Ağırlık-boy ilişkisi (WLRs), balıkçılık yönetimi, *Engraulis encrasicolus*, Hamsi, Karadeniz.

INTRODUCTION

Anchovy, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758), is distributed Eastern Atlantic: Bergen, Norway to East London, South Africa, Mediterranean and Black Sea (Froese & Pauly, 2019). Anchovy are regularly caught in the Mediterranean and Black Sea on the coasts of Spain, France, Italy, Russia, Ukraine, Bulgaria, Croatia, Romania, Greece, Georgia, and Turkey. Feeds on planktonic organisms such as fish eggs and larvae, Ctenophorans and copepods, etc. (Mazlum et al., 2017). Spawns from April to November with peaks usually in the warmest months (Ribeiro et al., 1996; Froese & Pauly, 2019). It is one of the most important migratory commercial small pelagic and fast growing fish species in the Black Sea and mainly caught by mid-water trawl (legal Anchovy fisheries with mid-water trawl towed behind two boats are conducted only in Samsun region in Turkey) and purse seine in the seven and a half months during the fishing season (between 31 August and 15 April) along the coast of Turkey. Anchovy tends to move further north and into surface waters in summer, retreating and descending in winter and during a fishing season average annual catch constitute about 69% of the total marine fisheries production of Turkey (Bilgin et al., 2013). In the Black Sea, the spawning season of Anchovy lasts from mid May, when water temperature is about 15-16°C, to the middle or end of August when the temperature is about 25-26°C (Lisovenko & Andrianov, 2006). Within the spawning season one average female can produce about 50 batches of more than 200,000 eggs (Lisovenko & Andrianov, 2006). The maximum total length of Anchovy was reported as 16.85 cm in 1986-1987 fishing season by Karacam & Düzgünes (1990) and also four age groups (0, I, II and III) were reported by different authors in different fishing seasons in the Black Sea (Erkoyuncu & Özdamar, 1989; Karacam & Düzgünes, 1990; Ünsal, 1989; Mutlu, 1994; Özdamar et al., 1995; Kayalı, 1998; Mutlu, 2000; Gözler & Çiloğlu, 1998; Samsun et al., 2004; Samsun et al., 2006; Aka et al., 2004; Bilgin et al., 2006; Şahin et al., 2008; Erdoğan Sağlam & Sağlam, 2010). All reproductive, growth and also mortality parameters of Black Sea Anchovy are very variable seasonally and annually (Bilgin, 2006; Lisovenko & Andrianov, 2006; Bilgin et al., 2016).

Knowledge on biological features such as reproduction, growth and weight length relationships (WLRs) are important tools for fisheries management. The information on the WLRs could contribute to the management of natural stocks of fish species which is ecologically and economically important, and possibly has suffered threats from overfishing, pollution and climate change (Oliveria et al., 2012) and also the WLRs allow estimating food and feeding, life histories of certain species (Stergiou & Moutopoulos, 2001). In addition to these, the WLRs parameters can be affected by different factors such

as environmental conditions, gonad maturity stages, sex, stomach fullness, health condition, season, population and differences within species (Froese, 2006; Oliveria et al., 2012). Thus, they are an important component of fisheries biology and when properly calculated they can be very useful to fisheries management (Froese et al., 2011). The weight (W) of fish and other organisms is exponentially related to their length (L) according to the equation $W = aL^b$, where a is the intercept and b is the slope of the relation (Le Cren, 1951). Based on the slope (b) of the relation between W and L , one can check whether the growth of a fish species is isometric ($b = 3$), negative allometric-hypoallometric ($b < 3$) or positive allometric-hyperallometric ($b > 3$).

The Anchovy is the main object of fishing industry in Turkey. So the knowledge of its biological properties including the WLRs parameters is necessary for fisheries management. The WLRs parameters of this Black Sea key fish species were previously reported from different geographic regions and different fishing seasons in the Black Sea (Erkoyuncu & Özdamar, 1989; Karacam & Düzgünes, 1990; Ünsal, 1989; Mutlu, 1994; Özdamar et al., 1995; Kayalı, 1998; Mutlu, 2000; Gözler & Çiloğlu, 1998; Samsun et al., 2004; Samsun et al., 2006; Aka et al., 2004; Bilgin et al., 2006; Şahin et al., 2008; Erdoğan Sağlam & Sağlam, 2010). Moreover, previous research into the WLRs parameters of Anchovy has been rather fragmentary in the Black Sea. The present study was conducted to determine the WLRs of Anchovy caught by purse seine during the 2013-2014 fishing season off the Rize and Trabzon provinces coasts in the southeastern Black Sea, Turkey and also to compare as a whole the WLRs parameters of Anchovy from different geographical locality and fishing seasons in support of sustainable fisheries management.

MATERIAL AND METHOD

Sample Collection: Samples of the Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) were collected at random from the commercial purse seine at the southern area of the Black Sea (off Rize and Trabzon provinces, Turkey) from September 2013 to April 2014 in 2013-2014 fishing season. After the purse seine fishing operation, a box of Anchovy (≈ 18 kg) was taken from the catch and brought to the Recep Tayyip Erdoğan University Fisheries Faculty Laboratory for examination.

Weight - Length Relationships (WLRs): The total length (TL) and the wet body weight (W) of *E. encrasicolus* were measured after blot drying with a piece of clean towel. All specimens were measured to the nearest 0.1 cm and weighed to the nearest 0.01 g. The weight-length relationships (WLRs) parameters were calculated and analyzed using MS Excel software. However to compare the

WLRs results for *E. encrasicolus* obtained in this study with the results of previous studies, the $\text{Log}(a)$ values were drawn against b values.

The weight length relationship was estimated as (Le Cren, 1951):

$$W = aTL^b,$$

where W is the body weight (g), TL is the total length (cm), a is the intercept, and b is the slope of the regression line. Comparison of the difference of slope value from $b = 3$ (isometric growth), Pauly's t -test was performed (Pauly, 1984). Pauly's t -test statistic was calculated as below:

$$t = \frac{Sd_{\log TL} |b - 3|}{Sd_{\log W} \sqrt{1 - r^2}} \sqrt{n - 2}$$

where $Sd_{\log TL}$ is the standard deviation of the $\log TL$ values, $Sd_{\log W}$ is the standard deviation of the $\log W$ values, n is the number of specimens of *E. encrasicolus* used in the computation. The value of b is different from $b = 3$ if calculated t value is greater than the table t values for $n-2$ degrees of freedom (Pauly, 1984). Comparison of the difference of correlation coefficient (r) from zero t -test (Snedecor & Cochran, 1989) was calculated as follow:

$$t = \frac{r * \sqrt{(n - 2)}}{\sqrt{(1 - r^2)}}$$

where n is the number of fish used in the computation and r is the correlation coefficient. The value of correlation coefficient is different from zero if t value is greater than the tabled t values for $n-2$ degrees of freedom. T test was used to compare the means between the sexes in PAST ver. 1.75b software package (Hammer et al., 2001). Differences were considered statistically significant when $P < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Size Structure: A total of 5485 *E. encrasicolus* (3336 female, 2149 male) were sampled from September 2013 to April 2014 and the maximum total length was measured as 13.8 cm for females and 13.2 cm for males. The mean total length of females (10.8 ± 0.02 cm) was significantly greater than mean total length of males (10.1 ± 0.03 cm) (t -test; $P < 0.05$).

Weight - Length Relationships (WLRs): The WLRs results and statistics of Anchovy showed below and in Fig. 1. Females: $W = 0.0159TL^{2.5609}$, $R^2 = 0.8093$, $n = 3336$, $Sd_{\log L} = 0.04294$, $Sd_{\log W} = 0.12225$, Pauly's t test = 203.78, $P < 0.001$. (95% conf. limits of b : from 2.5187 to 2.6032). Males: $W = 0.0078TL^{2.8757}$, $R^2 = 0.8783$, $n = 2149$, $Sd_{\log L} = 0.053783$, $Sd_{\log W} = 0.165031$, Pauly's t test = 5.405, $P < 0.001$. (95% conf. limits of b : from 2.8307 to 2.9209).

The WLRs parameters showed that sampled specimens has negative allometric growth characteristics ($b < 3$) both females ($b = 2.5609$) and males ($b = 2.8757$) (Pauly's t test, $P < 0.05$) in 2014-2015 fishing season. However, in order to comparison of the difference of correlation coefficient (r) from zero t -test (Snedecor and Cochran, 1989) was applied and the values of (r) for females ($r = 0.8093$), for males ($r = 0.8783$) and for combined data ($r = 0.8517$) are different from zero ($P < 0.05$), indicated that Anchovy has higher correlation in WLRs equations.

To compare the estimations calculated from the present study with other studies (showed in Table 2), $\text{Log}(a)$ values were plotted against values of b (Fig. 2), proved to be consistent with previous studies (from 1985-1986 fishing season up to 2014-2015 fishing seasons) data for *E. encrasicolus*. The results of regression analysis of $\text{Log}(a)$ to slope (b) for *E. encrasicolus* showed below and in Table 1. Females: $\text{Log}(a) = -0.9935*(b) + 0.7739$ ($R^2 = 0.9900$, $n = 11$, $P < 0.05$). Males: $\text{Log}(a) = -1.0131*(b) + 0.8289$ ($R^2 = 0.9872$, $n = 11$, $P < 0.05$). Females+Males: $\text{Log}(a) = -1.1661*(b) + 1.3103$ ($R^2 = 0.9024$, $n = 20$, $P < 0.05$)

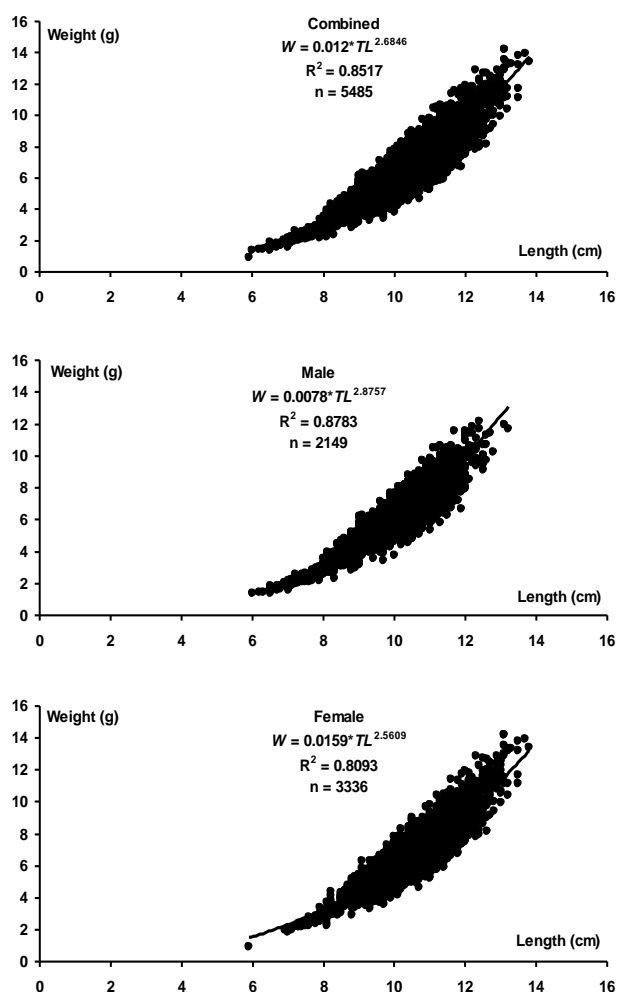


Figure 1. Weight - length relationships (WLRs) of the Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) caught during the 2013-2014 fishing season in the Black Sea.

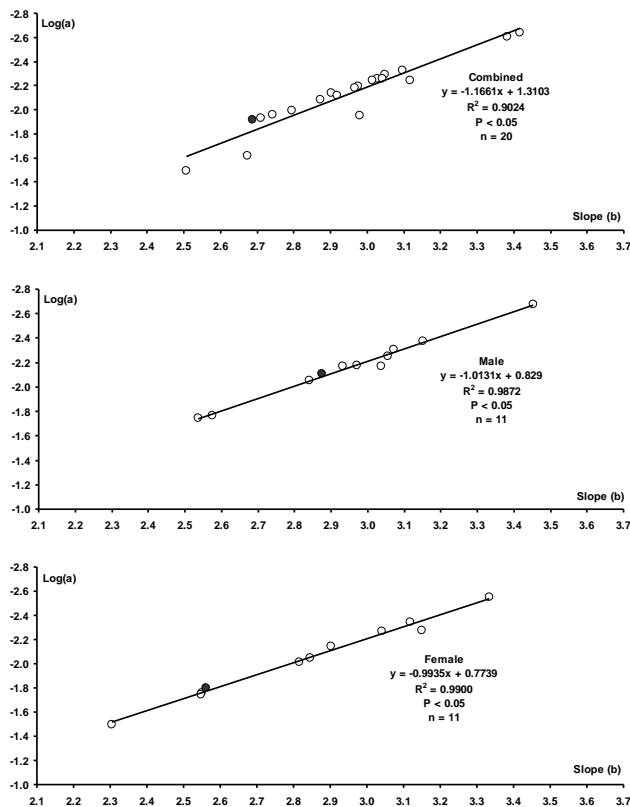


Figure 2. The test plot of $\text{Log}(a)$ against b for different WLRs of the Anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Black dot = present study parameter. White dot = estimated parameters of different studies conducted from 1985-1986 to 2013-2014 fishing seasons in the Black Sea (see Table 2).

In terms of fishing season variations, Anchovy exhibited positive allometric growth only in the first two fishing seasons (1985-1986 and 1986-1987). Later, isometric growth up to 1999-2000 fishing seasons and after 2000 years Anchovy has exhibited negative allometric growth and tended to be thinner (Fig. 3).

Table 2. The weight - length relationships (WLRs) parameters of the Anchovy (*Engraulis encrasicolus*) from 1985-1986 to 2013-2014 fishing seasons in the Black Sea. L_{max} : maximum total length (cm), a : intercept, b : slope. Data (a and b) has been used to draw of test plot of $\text{Log}(a)$ against b in Figure 2.

Fishing seasons	Regions	Sex												References
		Males				Females				Males+Females				
		L_{max}	a	b	r^2	L_{max}	a	b	r	L_{max}	a	b	r^2	
1985-1986	Sinop-Trabzon									16.1	0.0023	3.4157		1
1986-1987	Trabzon		0.0021	3.4539	0.9978					16.9	0.0025	3.3832	0.9994	2
1988-1989	Istanbul	13.0				13.0	0.0028	3.3331	0.9979	13.0	0.0064	2.9743		3
1993-1994	Trabzon	14.4	0.0068	2.9320	0.9390	13.9	0.0072	2.9030	0.9410	14.4	0.0051	3.0480	0.9700	4
1994-1995	Sinop-Samsun									15.3	0.0047	3.0975	0.9800	5
1996-1997	Trabzon-Hopa		0.0068	3.0370	0.8600		0.0053	3.1490	0.9000	13.5	0.0057	3.1170	0.8900	6
1996-1997	Ordu-Hopa									15.7	0.0073	2.9030	0.9690	7
1997-1998	Ordu-Hopa									15.3	0.0055	3.0270	0.9746	7
1997-1998	Rize-Hopa	13.8	0.0049	3.0710	0.8010	13.8	0.0054	3.0400	0.9440	13.8	0.0057	3.0150	0.9250	8
1998-1999	Sinop		0.0088	2.8404			0.0317	2.3042		14.5	0.0083	2.8720		9
1999-2000	Sinop		0.0056	3.0549			0.0097	2.8156		14.5	0.0076	2.9190		9
2000-2001	Sinop	13.8	0.0179	2.5368	0.9000	14.1	0.0174	2.5498	0.9000	14.1	0.0118	2.7101	0.9600	10
2001-2002	Trabzon									10.9	0.0320	2.5078	0.8954	11
2001-2002	Sinop									10.4	0.0241	2.6738	0.9134	11
2001-2002	Istanbul									10.9	0.0111	2.9796	0.8649	11
2004-2005	Sinop-Samsun									15.2	0.0066	2.9669	0.9600	12
2004-2005	Rize		0.0067	2.9709			0.0089	2.8445		15.0	0.0101	2.7948	0.9286	13
2005-2006	Rize		0.0042	3.1518			0.0045	3.1187		15.0	0.0055	3.0425		13
2010-2011	Sinop-Trabzon		0.0170	2.5760	0.9240		0.0180	2.5470	0.8510	14.8	0.0110	2.7420	0.9350	14
2013-2014	Trabzon-Rize	13.2	0.0078	2.8757	0.8800	13.8	0.0159	2.5609	0.8100	13.8	0.0120	2.6880	0.8500	15

1: Erkoymuncu & Özdamar (1989); 2: Karacam & Düzgünes (1990); 3: Ünsal (1989); 4: Mutlu (1994); 5: Özdamar et al., (1995); 6: Kayalı (1998); 7: Mutlu (2000); 8: Gözler & Çiloğlu (1998); 9: Samsun et al., (2004); 10: Samsun et al., (2006); 11: Aka et al., (2004); 12: Bilgin et al., (2006); 13: Şahin et al., (2008); 14: Erdoğan Sağlam & Sağlam (2010); 15: Present study.

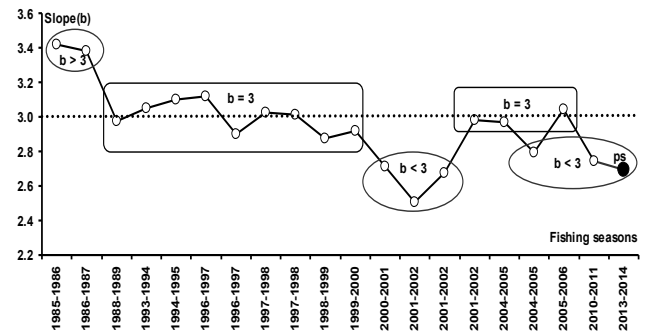


Figure 3. The slope (b) parameter values of the WLRs equation in Anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Black dot (ps) = present study parameter. White dot = estimated parameters of different studies conducted from 1985-1986 to 2013-2014 fishing seasons in the Black Sea.

In all result of the previous studies (a total of 20 fishing seasons results), except for 11 fishing seasons results, conducted between 1985-1986 and 2013-2014 fishing seasons in the Black Sea, the b values were reported regardless of fish sexes (Table 1).

Table 1. Results of regression analysis of $\text{Log}(a)$ to slope (b) for the Anchovy (*Engraulis encrasicolus*). Calculations were done using the data (a and b) shown in Table 2. a : Intercept, b (slope): x - variable 1.

	Coefficients	Standard Error (S.E)	T - stat	P - values	95% Confidence Limits of the Parameters	
Males+Females						
Intercept	1.3103	0.2668	4.9118	0.000112404	0.7498	1.8707
x - variable 1	-1.1661	0.0904	-12.9041	1.55379E-10	-1.3559	-0.9762
$\text{Log}(a) = -1.1661*(b) + 1.3103$ ($R^2 = 0.9024$, $n = 20$, $P < 0.05$)						
Males						
Intercept	0.8289	0.1141	7.2680	4.72392E-05	0.5709	1.0869
x - variable 1	-1.0131	0.0385	-26.3338	7.93126E-10	-1.1002	-0.9261
$\text{Log}(a) = -1.0131*(b) + 0.8289$ ($R^2 = 0.9872$, $n = 11$, $P < 0.05$)						
Females						
Intercept	0.7739	0.0949	8.1537	1.90063E-05	0.5592	0.9886
x - variable 1	-0.9935	0.0333	-29.8245	2.61713E-10	-1.0689	-0.9182
$\text{Log}(a) = -0.9935*(b) + 0.7735$ ($R^2 = 0.9900$, $n = 11$, $P < 0.05$)						

The reported b values for combined specimens ranged between 2.5078 and 3.4157 (mean: 2.9439 ± 0.05021 , $n = 20$) (Table 1). From the reported b values for different fishing seasons from the Black Sea, it can be inferred that this fish species exhibits different growth characteristics by different time intervals. Our data fit the regression for the species *E. encrasicolus* excellently and growth parameters are similar to five of the eight results of fishing seasons conducted after the 2000s in the Black Sea (Fig. 3). Similarly, when the b values were evaluated according to sexes, our b values (2.8757 in males and 2.5609 in females) are similar to the studies (Samsun et al., 2004; Samsun et al., 2006); Şahin et al., 2008; Erdoğan Sağlam & Sağlam, 2010) conducted after the 2000s in the Black Sea. Namely, the b values of the WLRs showed that sampled specimens has negative allometric growth characteristics ($b < 3$) both females and males ($P < 0.05$) after the 2000s in the Black Sea. Based on the slope (b) of the relation between W and L , it can be checked whether the growth of a fish species is isometric ($b = 3$), hypoallometric ($b < 3$) and hyperallometric ($b > 3$) (Le Cren, 1951; Froese, 2006; Froese et al., 2011). In such a way that if the $b = 3$, all fish dimensions increase at the same rate, if the $b < 3$, a fish increases less in weight than predicted by its increase in length, i.e., it becomes more elongated, if the $b > 3$, a fish increases more in weight than predicted by its increase in length, i.e., it becomes less elongated or more roundish (Le Cren (1951; Froese et al., 2011).

Historical evaluation of the b values (Fig. 3) has shown that anchovy have become more elongated in recent years ($b < 3$). The differences in the b values may be due to seasonal changes in the water temperature and the maturity stage, different sampling area, age, sex and differences of other biotic and abiotic factors such as salinity, competition, food and feeding, degree of stomach fullness, etc. Furthermore, the overfishing on anchovy stocks has shown itself in fish growth over the years (from 1985 to present time). This time period can be divided into three parts according to the exploitation ratio (E) levels and the slope values of the WLRs for Anchovy. First time period; 1985s years when fishing pressure has just started ($b > 3$). Second period; the years when the fishing pressure continues to increase ($b = 3$) and third time period; recent years when stocks are completely affected due to overfishing ($b < 3$). Namely, the anchovy individuals are more roundish-plump ($b > 3$) in the 1985s that time fishing pressure has just begun on stocks and exploitation rate about 0.5 (Karacam & Düzgünes, 1990), all fish dimensions increase at the same rate ($b = 3$) with the effect of overfishing (exploitation rate, $E > 0.5$) had continued for many years (Bilgin, 2006), and it becomes more elongated in recent years ($b < 3$) when stocks are completely affected

due to overfishing (Bilgin et al., 2016). The correlation coefficient (r) both females and males has higher correlation in the WLRs equations and also $\log(a)$ values were plotted against b values for *E. encrasicolus* proved to be consistent with previous studies data (Fig. 2). Similar result for different fish species such as thornback ray (*Raja clavata*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and scaldback (*Arnoglossus kessleri*) was reported by Bilgin & Köse (2018) and Bilgin & Onay (2019) from the Black Sea.

In conclusion, it has been historically determined that the Anchovy exhibited positive allometric growth in the mid-1985, isometric growth for next 15 years and negative allometric growth after the 2000s. Namely, historical evaluation of the b values has shown that anchovy have become more elongated in recent years. The obtained results on the WLRs parameters by fishing seasons are expected to be helpful in support of sustainable fisheries management of this key fish species in the Black Sea, Turkey.

ACKNOWLEDGMENTS

This study is summarized from the master's thesis and supported by Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries and Aquaculture.

REFERENCES

- Aka, Z., Torcu Koç, H. & Turan, C. (2004). A study on the growth of the anchovy *Engraulis encrasicolus*, Linnaeus (1758) in Turkish Seas. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(7), 1121-1126.
- Bilgin, S. (2006). Evaluated of anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L., 1758), fishing (1985-2005 fishing seasons) Turkish coast (Black Sea) in respect to fisheries biology. *Erciyes University, Journal of Science and Technology*, 22(1-2), 213-222.
- Bilgin, S., Samsun, N., Samsun, O. & Kalaycı, F. (2006). Estimation of population parameters of anchovy, *Engraulis encrasicolus* L. 1758, at 2004-2005 fishing season in the Middle Black Sea, using length frequency analysis methods. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(1/3), 359-364.
- Bilgin, S., Taşçı, B. & Bal, H. (2013). Sexual seasonal growth of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*) caught by mid-water trawl and purse seine in the southern Black Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 93(2), 333-339. DOI [10.1017/S0025315412000732](https://doi.org/10.1017/S0025315412000732)
- Bilgin, S., Sümer, Ç., Bektaş, S., Satılmış, H.H. & Bircan, R. (2016). Evaluation of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) population dynamics studies (1985-2015) in terms of fisheries

- management in the Black Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **33**(2), 169-182. DOI: [10.12714/egejfas.2016.33.2.12](https://doi.org/10.12714/egejfas.2016.33.2.12)
- Bilgin, S. & Köse, O. (2018)**. Length-weight relationships (LWRs) of target fish turbot, *Scophthalmus maximus* (Pleuronectiformes: Scophthalmidae) and non-target fish thornback ray, *Raja clavata* (Rajiformes: Rajidae) caught by turbot gill net fishery in the Black Sea, Turkey. *Cahiers de Biologie Marine*, **59**, 615-622. Doi: 10.21411/CBM.A.546928E7.
- Bilgin, S. & Onay, H. (2019)**. Weight-length relationships (WLRs) of scaldback, *Arnoglossus kessleri* Schmidt, 1915 (Pleuronectiformes: Bothidae), caught by beam trawl in the Southeastern Black Sea (Rize, Turkey). *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, **4**(3), 354-358. DOI: [10.35229/jaes.596048](https://doi.org/10.35229/jaes.596048).
- Erdoğan Sağlam, N. & Sağlam, C. (2013)**. Age, growth and mortality of anchovy *Engraulis encrasicolus* in the south-eastern region of the Black Sea during the 2010–2011 fishing season. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **93**, 2247-2255. DOI: [10.1017/S0025315413000611](https://doi.org/10.1017/S0025315413000611)
- Erkoyuncu, I. & Ozdamar, E. (1989)**. Estimation of the age, size and sex composition and growth parameters of anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L.) in the Black Sea. *Fisheries Research*, **7**, 241-247.
- Froese, R. (2006)**. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *Journal of Applied Ichthyology*, **22**, 241-253. DOI: [10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2006.00805.x).
- Froese, R., Tsikliras, A.C. & Stergiou, K.I. (2011)**. Editorial note on weight-length relations of fishes. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, **41**, 261-263. DOI: [10.3750/AIP2011.41.4.01](https://doi.org/10.3750/AIP2011.41.4.01).
- Froese, R. & Pauly, D. (2019)**. FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (12/2019).
- Gözler, A.M. & Çiloğlu, E. (1998)**. A study on some population parameters of anchovy (*Engraulis encrasicolus* L., 1758) caught 1997-1998 fishing season off Rize-Hopa. Eastern Anatolia Region III. Symposium on Fisheries 1998 (pp. 373-382). Erzurum, Turkey. Proceedings Book.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T. & Ryan, P.D. (2001)**. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, **4**, 1-9.
- Karacam, H. & Düzgünes, E. (1990)**. Age, growth and meat yield of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758) in the Black Sea. *Fisheries Research*, **9**, 181-186.
- Kayalı, E. (1998)**. A study on the biological characteristics of anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L., 1758) and horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) in the Eastern Black Sea ecosystem. M.Sc Thesis, Black Sea Technical University, Institute of Science and Technology, Department of Fisheries Technology Engineering. Trabzon, Turkey, 238p.
- Le Cren, E.D. (1951)**. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in the perch (*Perca fluviatilis*). *Journal of Animal Ecology*, **20**(2), 201-219.
- Lisovenko, L.A. & Andrianov, D.P. (1996)**. Reproductive biology of anchovy (*Engraulis encrasicolus ponticus* Alexandrov 1927) in the Black Sea. *Scientia Marina*, **60** (Supl. 2), 209-218.
- Mazlum, R.E., Solak, E. & Bilgin, S. (2017)**. Size and seasonal diet variation of European anchovy, *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) in the southeast Black Sea. *Cahiers de Biologie Marine*, **58**(3), 251-260. DOI: [10.21411/CBM.A.B2C2DBE2](https://doi.org/10.21411/CBM.A.B2C2DBE2)
- Mutlu, C. (1994)**. A study on the some population characteristics of anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L., 1758) in the Eastern Black Sea. M.Sc Thesis, Black Sea Technical University, Institute of Science and Technology, Department of Fisheries Technology Engineering. Trabzon, Turkey, 44p.
- Mutlu, C. (2000)**. Population characteristics and implementation of analytical methods for the prediction of the stock quantity of anchovy (*Engraulis encrasicolus* Linnaeus, 1758) in the Eastern Black Sea. PhD Thesis, Black Sea Technical University, Institute of Science and Technology, Department of Fisheries Technology Engineering. Trabzon, Turkey, 112p.
- Oliveira, M.R., Costa E.F.S., Araújo, A.S., Pessoa, E.K.R., Carvalho, M.M., Cavalcante, L.F.M. & Chellappa, S. (2012)**. Sex ratio and length-weight relationship for five marine fish species from Brazil. *Journal of Marine Biology & Oceanography*, **1**(2), 1-3. DOI: [10.4172/2324-8661.1000103](https://doi.org/10.4172/2324-8661.1000103).
- Özdamar, E., Samsun, O. & Erkoyuncu, I. (1995)**. The estimation of population parameters for anchovy (*Engraulis encrasicolus*, L.) during 1994-1995 fishing season in the Turkish Black Sea region. *Ege University Faculty of Fisheries, Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **12**(1-2), 135-144.
- Pauly, D. (1984)**. Fish population dynamics in tropical water: a manual for use with programmable calculators. The International Center for Living Aquatic Resources Management, Makati, Metro Manila, Philippines, 323p.
- Ribeiro, R., Reis, J., Santos, C., Gonçalves, F. & Soares A.M.V.M. (1996)**. Spawning of anchovy *Engraulis encrasicolus* in the Mondego Estuary, Portugal. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **42**, 467-482. DOI: [10.1006/ecss.1996.0030](https://doi.org/10.1006/ecss.1996.0030)
- Şahin, C., Akın, Ş., Hacımurtazaoglu, N., Mutlu, C. & Verep, B. (2008)**. The stock parameter of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) population on the coasts of the eastern Black Sea: reason and implications in declining of anchovy population during the 2004-2005 and 2005-2006 fishing

seasons. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(12b), 2159-2169.

- Samsun, O., Samsun, N. & Karamollaoğlu, A.C. (2004).** Age, growth and mortality rates of the European anchovy (*Engraulis encrasicolus* L. 1758) in the Turkish Black Sea Coast. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 28(5), 901-910.
- Samsun, O., Samsun, N., Kalaycı, F. & Bilgin, S. (2006).** A study on recent variations in the population structure of European Anchovy (*Engraulis encrasicolus* L., 1758) in the southern Black Sea. *E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(3-4), 301-306.
- Snedecor, G.W. & Cochran, W.G. (1989).** *Statistical methods*, Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA, 803p.
- Stergiou, K. I. & Moutopoulos, D.K. (2001).** A review of length-weight relationships of fishes from Greek marine waters. *Naga, the ICLARM Quarterly*, 24, 23-39.
- Ünsal, N. (1989).** A study on age-length-weight relationship and determination of the smallest catching size of anchovy, *Engraulis encrasicolus* (L.) in the Black Sea. *Istanbul University Journal of Aquatic Products*, 3(1-2), 17-28.



Human Health Risk Assessment of Heavy Metals Via Dietary Intake of Rainbow Trout from Samsun Fish Markets

Öztekin YARDIM* Levent BAT

University of Sinop, Fisheries Faculty, Department of Hydrobiology, 57000 Sinop, Turkey

Geliş/Received: 12.03.2020

Kabul/Accepted: 10.06.2020

How to cite: **Yardı, Ö. & Bat, L. (2020).** Human Health Risk Assessment of Heavy Metals Via Dietary Intake of Rainbow Trout from Samsun Fish Markets. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 260-263.

Atıf yapmak için: **Yardı, Ö. & Bat, L. (2020).** Samsun Balık Pazarlarından Gökkuşığı Alabalığı Tüketimi ile Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Risk Değerlendirmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 260-263.

*ID: <https://orcid.org/0000-0002-7753-5922>
ID: <https://orcid.org/0000-0002-2289-6691>

***Corresponding author's:**

Öztekin YARDIM

University of Sinop, Fisheries Faculty,
Department of Hydrobiology, 57000 Sinop,
Turkey

✉: oyardim@sinop.edu.tr

Mobile telephone : +90 (533) 563 54 85

Telephone : +90 (368) 287 62 65

Fax : +90 (368) 287 62 68

Abstract: Fish are an important part of the diet of the local people in the coasts of the Black Sea. The concentrations of three essential (Fe, Zn, Cu) and three non-essential (Pb, Hg, Cd) heavy metals were determined in Rainbow trout from Samsun fish market. In the present study, the maximum amounts of the toxic metals were 0.014 Pb mg kg⁻¹ wet wt., 0.024 Hg mg kg⁻¹ wet wt. and 0.018 Cd mg kg⁻¹ wet wt. in the edible tissues of Rainbow trout. Maximum toxic heavy metal values are quite below the permitted values set by the Turkish Food Codex (TFC) and European Union legislation. Hazardous quotient (HQ) values showed that there was no apparent risk when each metal was analysed individually. Moreover, hazard index (HI) was also found to be less than 1. From the results the HQ of the heavy metals indicated that all Rainbow trout individuals were safe with no risk to consumers from Samsun.

Keywords: Hazard index, hazardous quotient, heavy metals, Rainbow trout, Samsun..

Samsun Balık Pazarlarından Gökkuşığı Alabalığı Tüketimi ile Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Risk Değerlendirmesi

***Sorumlu yazar:**

Öztekin YARDIM

Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
Hidrobiyoloji Bölümü, 57000 Sinop,
Türkiye.

✉: oyardim@sinop.edu.tr

Cep telefonu : +90 (533) 563 54 85

Telefon : +90 (368) 287 62 65

Faks : +90 (368) 287 62 68

Öz: Balıklar Karadeniz kıyılarında halkın beslenmesinin önemli bir parçasıdır. Canlılar için üç esansiyel (Fe, Zn, Cu) ve üç esansiyel olmayan (Pb, Hg, Cd) ağır metal konsantrasyonları Samsun balık pazarından alınan Gökkuşığı alabalıklarında belirlenmiştir. Bu çalışmada Gökkuşığı alabalığının yenilebilir dokularında tespit edilen toksik metallerin maksimum miktarları, 0,014 Pb mg kg⁻¹ yaş ağırlık, 0,024 Hg mg kg⁻¹ yaş ağırlık ve 0,018 Cd mg kg⁻¹ yaş ağırlık olarak bulunmuştur. Maksimum toksik ağır metal değerleri, Türk Gıda Kodeksi (TGK) ve Avrupa Birliği mevzuatı tarafından izin verilen değerlerin oldukça altındadır. Tehlikeli katsayı (TK) değerleri, her metal için ayrı ayrı analiz edildiğinde belirgin bir riskin olmadığını göstermiştir. Ayrıca, tehlike indeksi (Tİ) de 1'den az bulunmuştur. Sonuçlardan, ağır metallerin Tİ'si tüm Gökkuşığı alabalığı tüketiciler için hiçbir risk olmaksızın güvenli olduğunu göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Ağır metaller, Gökkuşığı alabalığı, Samsun, tehlike indeksi, tehlikeli katsayı.

INTRODUCTION

There is increasing attention to detect heavy metal contamination in fish today (Bat & Arici, 2018). Essential metals are beneficial for humans, but non-essential heavy metals are extremely harmful. Intake of fish is one of the main pathways of heavy metal toxicity to people. Heavy metals are known the most marked forms of contamination in the marine ecosystem. This is since heavy metals are not simply biodegradable and as a consequence can be accumulated in human vital organs. This can cause serious illnesses and even deaths (Bat et al., 1999).

Fish is accepted necessary to a healthy diet because it has quality protein, high content of omega-3 polyunsaturated fatty acids, providing vitamins and a wide range of nutrients (De Lorgeril et al., 1994). Rainbow trout are very delicious and popular fish and are frequently consumed in Samsun, but information on the health risks of the heavy metals is rare. The hazard quotient (HQ), which is a ratio of determined amount of a contaminant to the reference dose level. If the ratio is less than 1, there will not be any explicit risk. On the other hand, an exposed people will lifetime health risks if the amount is equal to or higher than the reference dose (EFSA, 2010; European Food Safety Authority, 2012; EFSA, 2012; EFSA, 2014; EFSA, 2015). Risk estimation method was applied in the present study. The main objective of this study is to estimate the health risks of heavy metals, such as Fe, Zn, Cu, Pb, Cd and Hg via consumption of Rainbow trout to the people in Samsun using the HQ estimates.

MATERIAL AND METHOD

The origin of fresh samples (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) was fish markets of Samsun Balık Hali (Fishing Store). Rainbow trout samples collected randomly from different fish markets in 2017. A total of 20 Rainbow trout individuals were purchased as fresh. To obtain three homogeneous samples of each individuals for metal analysis, a portion of muscle tissue was taken from the dorsal muscles according to the process described by Bernhard (1976). Analyses was replicated three times. Concentrations were calculated on a wet weight basis.

Metal analysis in fish was performed using m-AOAC 999.10- ICP/MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) method by accredited Environment Industrial Analysis Laboratory Services Trade Company (TÜRKAK Test TS EN ISO IEC 17025 AB-0364-T). EN 15763 European Standard methods was applied. The sensitivity of the method was determined according to the detection limits established for the ICP/MS, which were < 0.001 µg/L for Fe, Pb and Cd, < 0.01 Zn and Hg and < 0.0001 µg/L for Cu.

Health risk calculation

Estimated Daily Intake (EDI): For the EDI the average metal content in each individual was calculated and multiplied by the respective consumption rate. EDI was determined by the following equation (1):

$$(1) \text{ EDI} = C_{(\text{Metal amounts})} \times W_{(\text{fish intake})} / \text{Body Weight (70 kg for adults)}$$

Where,

$C_{(\text{Metal amounts})}$ = Heavy metal concentration in Rainbow trout (mg/kg); $W_{(\text{fish intake})}$ = Daily intake of fish (kg person⁻¹day⁻¹ wet wt.).

The average daily fish intake rate is 15 g in 2017 (TUIK, 2019).

Hazardous Quotient (HQ) and Hazard Index (HI): In this study a value of intake of these heavy metals in Rainbow trout was calculated to estimate the risk to human health via consumption. Hazardous Quotient (HQ) for people through the consumption of contaminated Rainbow trout was assessed by the ratio of EDI to the oral reference dose (Rf. D, mg/kg/day) for each metal. An estimate of risk to HQ through consumption of metal contaminated fish was calculated by the following equation (2):

$$(2) \text{ HQ} = \text{EDI} / \text{Rf. D.}$$

Oral reference doses (Rf. D.) mg kg⁻¹ day⁻¹ for Fe, Zn, Cu, Pb, Cd and Hg are 0.7, 0.3, 0.04, 0.004, 0.001 and 0.0005 mg/kg/day, respectively (The Risk Assessment Information System, 2019).

The HI is the sum of the HQs for all heavy metals, which was calculated by the equation (3):

$$(3) \text{ HI} = \sum \text{HQs} = \text{HQ}_{(\text{Fe})} + \text{HQ}_{(\text{Zn})} + \text{HQ}_{(\text{Cu})} + \text{HQ}_{(\text{Pb})} + \text{HQ}_{(\text{Cd})} + \text{HQ}_{(\text{Hg})}$$

If the HI value is less than 1, the local consumers exposed are said to be safe, if HI is equal to or higher than 1, it is considered unsafe for people's health, so potential health risk and related treatments and preventive measures should be taken.

Statistical analysis: Statistical significance of means was computed using one-way ANOVA and Duncan multiple range test were used to calculate the significant difference in the concentrations of studied metals, with a significance level of $P < 0.05$. Statistical analysis of data was performed by IBM SPSS 21.

RESULTS

Fe, Zn and Cu are essential heavy metals which may exert toxicity at high concentrations. Non-essential heavy metals such as Pb, Hg and Cd, have no biological functions and their intake can lead to adverse health effects (Bat, 2014; Bat, 2017). Results of the present study on heavy metals (Fe, Zn, Cu, Pb, Cd and Hg) in Rainbow trout

from Samsun fish markets are given in Figure 1. Pb, Hg and Cd levels were below the limit of quantitation values

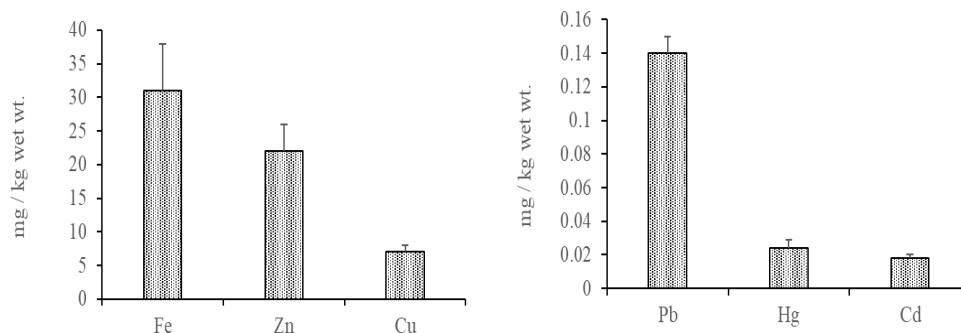


Figure 1. Fe, Zn, Cu, Pb, Hg and Cd levels in Rainbow trout from Samsun fish markets in 2017.

Currently, limit values permitted by international (EU) and national (Turkish Food Codex) organizations (European Commission, 2006; Turkish Food Codex, 2008) are not available for essential heavy metals (Bat et al., 2020). In the present study maximum non-essential heavy metal values determined in Rainbow trout are clearly below the permitted values set by the TFC and EU legislations. The maximum amounts set by the EC Regulation and TFC for Pb, Hg and Cd in Rainbow trout are 0.3, 0.50 and 0.050 mg/kg⁻¹ wet wt., respectively (Turkish Food Codex (TFC) No. 2008/26; Commission Regulation (EC) No. 1881/2006). The maximum amounts of the present study were 0.014 Pb mg kg⁻¹ wet wt., 0.024 Hg mg kg⁻¹ wet wt. and 0.018 Cd mg kg⁻¹ wet wt. in the edible tissues of Rainbow trout.

The low metals levels obtained for Rainbow trout in this study are in good agreement with previous studies from Sinop fish markets (Bat et al., 2018), from the Karakaya Dam Reservoir on the Fırat River in eastern

in some samples of Rainbow trout individuals. However, the mean values for each metal were given in Figure 1.

Anatolia (Varol et al., 2017) and from the Fırtına and Güneysu Rivers (Dizman et al., 2017).

The estimated exposure to studied heavy metals due to the Rainbow trout consumption was calculated, considering the mean values of this study and an average Turkish consumer (70 kg) in the year 2017 as a reference; it must be considered that the consumption of fish in Turkey is 17 g per day. Estimated daily intakes of heavy metals through the consumption of fish in the present study was less than tolerable daily intake limit set by the US-EPA, IRIS (2013). In the current study, the highest EDI was found as Fe. This was followed by Zn, Cu, Pb, Hg and Cd. HQ was calculated for each metal. HQ values were calculated on the basis of the oral reference dose, there was no apparent risk when each metal was analysed individually. Its sum (HI) was also found to be less than 1, which means that consuming fish is not harmful to human health.

Table 1. People health risk parameters in Rainbow trout from Samsun fish markets.

Health Risks	Heavy metals					
	Fe	Zn	Cu	Pb	Hg	Cd
EDIs	6.64×10^{-3}	4.71×10^{-3}	1.5×10^{-3}	3×10^{-5}	5.1×10^{-6}	3.9×10^{-6}
HQs	9.48×10^{-3}	1.57×10^{-2}	3.75×10^{-2}	7.5×10^{-3}	1.03×10^{-2}	3.86×10^{-3}
HI	8.43×10^{-2}					

The finding of the present study regarding HQs and HI showed that the consumption of Rainbow trout from Samsun fish markets was free of health risks. Regular monitoring of heavy metal contamination in seafood is necessary in order to reduce the health risk. Rainbow trout is one of the most widely and most frequently consumed fish. Thus, popular fish, such as Rainbow trout, can be used for biomonitoring the marine contamination.

According to the results of the present study and Turkish and EU legislations, the contribution of Fe, Zn, Cu,

Pb, Hg and Cd through Rainbow trout to the Turkish diet does not hazard a risk to the consumer from Samsun.

CONCLUSION

Average concentrations of essential and toxic metals in Rainbow trout were negligible. These values were far below the limit levels set by the TFC and EU Regulations. As a conclusion the contribution studied heavy metals through Rainbow trout to the Turkish diet does not pose a risk to the consumer, according to national and international legislations.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to acknowledge the Department of Hydrobiology, Fisheries Faculty, University of Sinop for providing laboratory facilities during the study.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

- Bat, L. (2014).** Heavy metal pollution in the Black Sea. In: Düzgüneş E, Öztürk B, Zengin M. (Eds.). Turkish Fisheries in the Black Sea. *Turkish Marine Research Foundation (TUDAV)*, Istanbul, Turkey, **40**, 71-107.
- Bat, L. (2017).** The Contamination Status of Heavy Metals in Fish from the Black Sea, Turkey and Potential Risks to Human Health. In: Sezgin, M., Bat, L., Ürkmez, D., Arıcı, E., Öztürk, B. (Eds.) Black Sea Marine Environment: The Turkish Shelf. *Turkish Marine Research Foundation (TUDAV)*, Istanbul, TURKEY, **46**, 322-418.
- Bat, L. & Arıcı, E. (2018).** Heavy metal levels in fish, molluscs, and crustacea from Turkish seas and potential risk of human health. In *Food Quality: Balancing Health and Disease* 159-196p. Elsevier Inc., Academic Press: UK.
- Bat, L., Gündoğdu, A. & Öztürk, M. (1999).** Ağır metaller. *SDÜ Egridir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **6**, 166-175.
- Bat, L., Oztekin, A. & Yardim, O. (2018).** Metal levels in large sea trout from Sinop fish market. *Fresenius Environmental Bulletin*, **27**(12), 8505-8508.
- Bat, L., Öztekin, A., Arıcı, E. & Şahin F. (2020).** Health risk assessment: heavy metals in fish from the southern Black Sea. *Foods and Raw Materials*, **8**(1), 115-124.
- Bernhard, M. (1976).** *Manual of methods in aquatic environment research*. Part 3-Sampling and analyses of biological material (guidelines for the FAO (GFCM)/UNEP Joint Coordinated Project on Pollution in the Mediterranean). Documents Techniques FAO sur les Pêches (FAO).
- De Lorgeril, M., Renaud, S., Salen, P., Monjaud, I., Mamelle, N., Martin, J.L., Monjaud, I., Guidollet, J., Touboul, P. & Delaye, J. (1994).** Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *The Lancet*, **343**(8911), 1454-1459.
- Dizman, S., Görür, F.K. & Keser, R. (2017).** Assessment of human health risk from heavy metals levels in water and tissues of two trout species (*Oncorhynchus mykiss* and *Salmo coruhensis*) from the Fırtına and Güneysu Rivers in Turkey. *Toxin Reviews*, **36**(4), 306-312.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2010).** Scientific Opinion on lead in food. *EFSA Journal*, **8**(4), 1570.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2012).** Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal*, **10**(12), 2985.
- EFSA Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). (2014).** Scientific Opinion on health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury. *EFSA journal*, **12**(7), 3761.
- EFSA Scientific Committee. (2015).** Statement on the benefits of fish/seafood consumption compared to the risks of methylmercury in fish/seafood. *EFSA journal*, **13**(1), 3982.
- European Commission. (2006).** Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off J Eur Union*, **364**(365-324).
- European Food Safety Authority. (2012).** Cadmium dietary exposure in the European population. *Efsa Journal*, **10**(1), 2551.
- The Risk Assessment Information System (RAIS). (2019).** University of Tennessee, Available from: <https://rais.ornl.gov/index.html>.
- TUIK, Turkish Fishery Statistics (2019).** Available from: <http://www.tuik.gov.tr/>.
- Turkish Food Codex (2008).** Turkish food codex communiqué on determining the maximum levels of certain contaminants in foodstuffs. *The Official Gazette*, **17**(2008), 26879.
- U.S. Environmental Protection Agency, (IRIS) (2013).** Washington, DC. *Integrated Risk Information System*, Available at: <http://www.epa.gov/iris/>.
- Varol, M., Kaya, G.K. & Alp, A. (2017).** Heavy metal and arsenic concentrations in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farmed in a dam reservoir on the Fırat (Euphrates) River: Risk-based consumption advisories. *Science of the Total Environment*, **599**, 1288-1296.



Deniz Levreği ve Çipura Yemlerinde Totoks Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi Üzerine Bir Araştırma

Önder YILDIRIM* İsmail Berat ÇANTAŞ

Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği, Muğla/TÜRKİYE

Geliş/Received: 03.03.2020

Kabul/Accepted: 16.06.2020

Atıf yapmak için: Yıldırım, Ö. & Çantaş, İ.B. (2020). Deniz Levreği ve Çipura Yemlerinde Totoks Değerlerinin Zamana Bağlı Değişimi Üzerine Bir Araştırma. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(2), 264-269.

How to cite: Yıldırım, Ö. & Çantaş, İ.B. (2020). A Study on the Time-Dependent Change of Totox Values in Feeds of Marine Fish. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(2), 264-269.

<https://orcid.org/0000-0003-2591-0310>
 <https://orcid.org/0000-0002-2074-4985>

***Sorumlu yazarın:**

Önder YILDIRIM
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Su
Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği,
Muğla/Türkiye.
✉: onderyildirim@mu.edu.tr
Cep telefonu : +90 (542) 321 07 48
Faks : +90 (252) 211 18 86

Öz: Su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli kriterlerin başında, yemden maksimum yararlanma ve yem masrafını minimize etme gelmektedir. Yemden yararlanmayı etkili kılabilecek en önemli faktörlerinden biri yem üretimi ve depolanma şartlarıdır. Yemin en uygun ortamda saklanarak olası oksidasyon gibi durumların önüne geçilmesi önemlidir. Yemlerde oksidasyon hesaplanırken totoks değeri kullanılmaktadır. Totoks değeri de ölçülen peroksit sayısı ve p-anisidin değerlerinin formülasyonda yerine konulmasıyla elde edilmektedir. Bu çalışmada, iki farklı depolama koşulunda +4 °C ve oda sıcaklığında (+24 °C). Deniz levreği ve çipura yemindeki totoks değeri 45 gün boyunca takip edilmesi ve balık için verilir verilmeyeceğinin tespiti amaçlanmıştır. Başlangıçta, 24 °C ve +4 °C'de peroksit sayısı sırasıyla 5,94±0.40 ve 6,83±1.23; p-anisidin değerleri 6,21±0.22 ve 6,42±0.47; totoks değerleri ise 18,09±0.82 ve 20,08±2.98; 45. Gün sonunda ise 24 °C ve +4 °C'de peroksit sayısı sırasıyla 8,86±0.95 ve 4,91±0.17; p-anisidin değerleri 7,23±1.22 ve 8,08±1.23; totoks değerleri ise 24,94±1.30 ve 17,89±0.33 olarak tespit edilmiştir. Totoks değerinin sınır değer olarak kabul edilen 25'in üzerinde görülmesi bozulma göstergesi olarak kabul edilebilir. Sonuç olarak balık yemlerinde ilk 30 günlük sürede +24°C sıcaklıkta veya +4 °C'de depolanması arasında oksidasyon açısından önemli bir fark olmadığı görülmüştür. Bununla beraber, 45 günlük depolamada +4°C'de saklanan yemlerde totoks değerlerinin daha az okside olduğu tespit edilmiştir (p<0.05).

Anahtar kelimeler: Balık yemi, depolama, peroksit değeri, p-anisidin değeri.

A Study on the Time-Dependent Change of Totox Values in Feeds of Marine Fish

Abstract: The most important factor in aquaculture is the maximum utilization of feed and also the minimum costs. Among the important factors on the utilization of feed is the production of feed processes and storage conditions. By ensuring that the feed is stored under the best conditions, it will be helped to prevent oxidation. The totox value is one of the values which express the calculated amount of oxidation in the feed. It could be obtained by substituting the measured peroxide amount and p-anisidine values in a formula. The aim of this study, to obtain the totox values in the feed of European sea bass and sea bream species. The feeds were stored under two different storage temperatures (at +4°C and + 24°C) for 45 days. In the beginning, the values of peroxides at 24 °C and + 4°C was obtained as 5.94 ± 0.40 and 6.83 ± 1.23, respectively; p-anisidine values were 6.21 ± 0.22 and 6.42 ± 0.47; totox values were 18.09 ± 0.82 and 20.08 ± 2.98. At the end of the storage days (45th day), the values of peroxides at 24°C and + 4°C was calculated as 8.86 ± 0.95 and 4.91 ± 0.17; p-anisidine values were 7.23 ± 1.22 and 8.08 ± 1.23; totox values were found to be 24.94 ± 1.30 and 17.89 ± 0.33. As a result, there was no statistically significant difference in totox values of feeds stored at different temperatures during the first 30 days. However, feeds stored at +4°C showed less totox values (p <0.05) compare to 24°C at the end of the trial (45 days).

***Corresponding author's:**

Önder YILDIRIM
Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of
Fisheries, Aquaculture, Muğla/Türkiye.
✉: onderyildirim@mu.edu.tr
Mobile telephone : +90 (542) 321 07 48
Fax : +90 (252) 211 18 86

Keywords: Fish feed, feed storage, peroxide value, p-anisidine value.

GİRİŞ

FAO verilerine göre 2018 yılında Dünya’da 82,1 milyon ton su ürünleri yetiştiriciliği gerçekleştirilmiştir (algler, diğer deniz canlıları hariç). Yetiştiricilik yoluyla elde edilen üretim miktarının 51,3 milyon tonu iç sulardan, 30,8 milyon tonu ise denizlerde yapılan yetiştiricilikten elde edilmiştir. Dünya çapında kişi başına yıllık su ürünleri tüketim miktarı ortalama 20,5 kg’dır (FAO, 2020).

Türkiye’de su ürünleri yetiştiriciliği giderek artış göstermektedir. Yaklaşık son yirmi yıllık gelişimine bakıldığında, 2000 yılında 79.031 ton, 2005 yılında 118.277 ton, 2010 yılında 167.141 ton ve 2019 yılında 373.356 ton su ürünleri yetiştiriciliğinden üretim gerçekleşmiştir. 2019 yılında en fazla yetiştirilen türler ise 137.419 ton ile Akdeniz deniz levreği, 123.089 ton ile Gökkuşluğu alabalığı ve 99.730 ton ile çipura olmuştur (TUİK, 2020). Türkiye, Avrupa deniz levreğinde ve çipura yetiştiriciliğinde dünya lideri konumundadır.

Dünya’da yem üretimi 2018 yılında 1,103 milyar ton olarak tespit edilmiş olup, bunun içinde ise 40,1 milyon tonluk su ürünleri yemi de bulunmaktadır (Alltech, 2019). Türkiye’de balık yetiştiriciliğinin sağlanması için 2018 yılında 446 bin ton balık yemi üretimi gerçekleşmiştir (Türkiyemir, 2019). Su ürünleri yetiştiriciliğinin temel esaslarından biriside yem masrafını minimize etmek ve yemden maksimum olarak yararlanmaktır. Yemden yararlanmayı etkili kılacak en önemli faktörlerinden biri yemin üretim sırasında sürekli olarak temini ve depolanma şartlarıdır. Araştırmacılar yem maliyetini azaltmak için farklı hammadde arayışlarını sürdürmektedir (Arıman Karabulut vd., 2016). Yem, en uygun ortamda saklanarak meydana gelecek bozulmalar ve oksidasyon gibi durumların önüne geçilmelidir. Yağlar, depolanma süresince oksijen, metal iyonları, sıcaklık, ışık gibi fiziksel ve kimyasal faktörlerin etkileriyle bozulabilirler (Erciyes Üni. Gıda Müh., 2019). Ayrıca, oksijen, doymamış yağ asitlerini parçalayarak daha küçük moleküllü yağ asitlerinin meydana gelmesine de neden olur. Yağların oksidasyon düzeyini saptamak için, birincil oksidasyon ürünleri hidroperoksitler peroksit sayısı yöntemiyle hesaplanır kullanılan en yaygın ve eski metottur (Frankel, 2005).

Anisidin değerinin ölçülmesi yağlardaki ikincil oksidasyon ürünlerinin saptanması yoluyla olmaktadır. Metot spesifik olmayan ikincil oksidasyon ürünlerinin ya da uçucu olmayan karbonil bileşiklerinin tahmini ile saptanır. Bu bileşikler hidroperoksitlerden dekompoze olmuşlardır ve genelde aldehitleri içerirler. Farklı iki aldehit olan 2-alkenaller ve 2.4-dienallerin anisidin değeri üzerinde büyük etkisi vardır (AOCS, 1990). Diğer sonradan yapılan çalışmalara göre ise bu metodun ikincil oksidasyon ürünlerini tam yansıtamayabileceği bildirilmiştir (Frankel, 2005; Olsen, 2005). Bilimsel olarak hangi bileşiğin anisidin değerinde kullanılacağı tam olarak saptanamamıştır

(Frankel, 2005). Anisidin değeri taze işlenmiş yağların depolanmadaki stabilitesi tahmininde yaklaşık bir ölçü olarak kullanılabilir (Frankel, 2005; Kasbo,2011). Yukarıda açıklandığı üzere yağlarda oksidasyon seviyesinin belirlenmesi kalite açısından oldukça kritiktir. Bunları belirlemek için bir dizi test mevcuttur. Peroksit sayısı lipid oksidasyonunda ilk ürünleri saptamaya yararken, p-anisidin ise ikincil ürünlerin (aldehit ve ketonlar) ölçümünü yapmaktadır. GOED (EPA ve DHA içeren ürünlere ilişkin kurulmuş, uluslararası birlik), yağların kritik sınırlarını sırasıyla; peroksit sayısı için <5 mEq/kg ve anisidin değeri için <20 ve totoks değeri için <26 olarak bildirmiştir (Kasbo, 2011). Lipid oksidasyonu ardışık bir süreçtir. Peroksit değerinin artışı, anisidin değeri artışı takip eder. Aynı yağdaki oksidasyon ürünlerin maksimum düzeyini bulmak için de toplam oksidasyon (totoks) değeri kurulmuştur (FAO/WHO codex alimentarius Commission, 2015; Kasmiran, 2016).

İşletmelerde yapılan görüşmeler sonunda, balık yemlerinde yağ oranı, gökkuşluğu alabalığı yemlerinde yavru balık için ortalama %10-16 arasında, büyütme yemlerinde %16-20 oranında, Avrupa deniz levreğinde yavru yemlerinde %14-16, büyütme yemlerinde %18-24 arasında ve çipura yavru yemlerinde %14-16, büyütme döneminde yaklaşık %18-24 arasında değişmektedir. Yine işletmelerle yaptığımız görüşmeler neticesinde, yemin tesise girdikten sonra kış aylarında en geç 60 gün, yaz aylarında ise 45 gün içinde tüketildikleri, daha uzun depolanma süreçlerine maruz kalmadıkları bilgisine ulaşılmıştır.

Totoks Değeri: Yenilebilen yağların kalite değerlerini saptamak için önemli bir değerdir. Peroksit ve p-anisidin değeri ile bulunur.

Totoks Değeri= 2 X Peroksit Sayısı + p-anisidin değeri.

Totoks değeri, ürünün anlık durumunu (peroksit sayısını kullanarak) ve geçmişini (anisidin değeri) dikkate almaktadır. Buna göre totoks değerindeki farklar ayrı ayrı değerlere göre daha büyük bir önem arz etmektedir. Bu yöntem önceden beri bilinmesine rağmen yağlarda herhangi bir limit ya da resmi standart kalite kriteri bulunmamaktadır. İyi rafine yağlarda anisidin değeri için 10 limit değeri kural olarak kullanılmaktadır. Frankel, (2005)’e göre anisidin değerinin iyi kaliteli yağlarda 4’ün altında olmasını tavsiye etmiştir. German Society for Fat Sciences (DGF) ise rafine ve işlenmemiş yağlarda totoks değerinin 20’den az olmasını tavsiye etmektedir.

Oksidasyon düzeyi iki büyük endüstriyel standartla ayrılır, peroksit sayısı hidroperoksit seviyesini ölçerken, anisidin değeri ise ikincil oksidasyon düzeyini ölçmektedir. İki ölçümün beraber yapılması ve formüle uygulanması ile de totoks düzeyi ortaya çıkar ve oksidasyon seviyesi belirlenir. Maksimum düzeyler birçok çalışmaya göre

Peroksit düzeyi için 5 meq/kg, Anisidin için 20 ve totoks için de 26'dır (FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, 2015)

Bu çalışmada yemlerde oksidasyon düzeyinin tespiti için önemli olan peroksit ve p-anisidin değerleri iki farklı sıcaklıkta saklanan yemlerde 45 günlük süreçte hesaplanmış ve buna göre totoks değeri belirlenmiştir. Bu araştırmada, Avrupa deniz levreği ve çipura yemlerinde sıcaklığa ve süreye bağlı olarak elde edilen totoks değerlerinin kabul edilebilir olup olmadığı ortaya konmuştur.

MATERYAL VE METOT

Bu araştırmada, iki farklı depolamada koşulunda +4°C ve oda sıcaklığında (+24°C) saklanan yemlerde totoks değeri hesaplanarak yemin ne kadar süre depolanarak kullanılabilirliğine ulaşılmaya çalışılmıştır. Çalışmada bir toprak havuz işletmesinde kullanılan 4mm Çipura/Levrek tam büyütme yemleri kullanılmıştır. Yem çuvalının açıldığı gün, 0. gün olarak kabul edilmiş ve 15 günlük periyotlarda her iki yem grubunda peroksit sayısı ve p-anisidin değeri ölçülerek totoks değeri hesaplanmıştır. Yemler her grupta ağzı kapalı olan 1 kg'lık kaplarda saklanmış ve dış ortama olan hava teması engellenmiştir. Yemin besinsel içeriği Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1. Yemin biyokimyasal kompozisyonu.
Table 1. Feed biochemical composition.

Kompozisyon	%
Ham Protein	40
Ham Yağ	24
Ham Selüloz	2
Ham Kül	8
Fosfor	0,90
Kalsiyum	1,5
Sodyum	0,30

Numune Hazırlanması: Oda sıcaklığı (+24°C) ve +4°C'de muhafaza edilen numuneler 100 g tartılmıştır. Laboratuvar tipi öğütücüde öğütülen numunelere 100 ml Petrol Eteri eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda yaklaşık 5 dk karıştırıldı ve karışımlar çeker ocak altında kaba filtre kağıdı ile süzüldü. Süzüntüdeki petrol eteri azot gazı altında uçurulup yağ elde edilmiştir.

Peroksit Sayısı Tayini: Peroksit değeri AOCS (2017a) metoduna göre tespit edilmiştir. Peroksit sayısı deodorizasyon işleminin etkin bir şekilde yapıp yapılmadığını gösterir. Peroksit sayısı oksidasyon derecesini gösteren bir parametredir. Yağların bozulma (acılaşma) durumlarının tespiti için peroksit sayısı tayini veya kreiss testi uygulanır. Peroksit sayısı tayinin esası, potasyum iyodürün yağdaki peroksit oksijeni ile okside olarak iyodun serbest hale geçmesi ve bu serbest haldeki iyodun da tiyosülfat ile titre edilerek miktarının bulunmasıdır.

Yemlerden elde edilen yağdan, erlenlere yaklaşık 1 g tartılarak, üzerine sırasıyla 10 ml Kloroform, 15 ml Glacial Asetik Asit ve 1 ml potasyum iyodür ilave edilmiştir. Örnekler çalkalanıp ağzı kapalı şekilde 5dk karanlıkta bekletilmiştir. Üzerine 75 ml saf su eklenerek, 1 ml Nişasta çözeltisi ilave edilip 0,01 N tiyosülfat ile dönüm noktasına kadar titre edilmiştir. Aşağıdaki formülle peroksit sayısı tespit edilmiştir.

$$\text{Peroksit sayısı (PV)} = \frac{(V - V_{\text{blk}}) \times N \times 1000}{m}$$

V: Titrasyonda sarfedilen sodyum tiyosülfatın miktarı (ml)

V_{blk} : Kör titrasyon miktarı (ml)

N: Sodyum tiyosülfat çözeltisinin normalitesi

m: Örnek miktarı (g)

p-Anisidin Sayısı Tayini: p-anisidin analizi ise AOCS, (2017b) metoduna göre tespit edilmiştir. Anisidin değeri; 100 ml p-anisidin veya çözücü ile 1 gram yağın reaksiyonu sonucu 350 nm dalga boyunda oluşan absorbansın 100 katı olarak tanımlanır. Reaksiyon ürünü spektrofotometrede ölçülür. Bu test yağda bulunan ikincil parçalanma ürünlerinden aldehitlerin özellikle de 2 alkenallerin miktarını belirler. p-Anisidin Değeri (AV); okside olmuş bir yağda peroksitler daha ileri safhalarda karbonil gibi dekompoze olmuş ikincil türlere dönüşürler. Anisidin değeri yüksek molekül ağırlıklı bu karbonil bileşiklerini (aldehitler, 2-alkenler vs.) ifade eder. Maksimum değeri 20 meq/kg olmalıdır (National Research Council, 2002).

Elde edilen yağdan 25 ml'lik falkonlara yaklaşık 0,5 g tartıldı. Üzerine 10 ml izooktan eklendi ve karıştırıldı. Bu çözeltiden 2,5 ml alınıp üzerine 0.5 ml p-Anisidin çözeltisi eklendi ve 10 dk bekletildi. Blank olarak 2,5 ml izooktan ve 0.5 ml p-Anisidin çözeltisi karıştırılıp 10 dk bekletildi. 350 nm dalga boyunda okutuldu. Elde edilen değerler aşağıdaki formülasyonda yerine konuldu.

$$P - \text{Anisidin sayısı (PAV)} = \frac{(1.2 \times (As - Ab) \times 10)}{m}$$

As = yağ çözeltisinin p-anisidin ile reaksiyonu sonrası absorbans değeri

Ab = yağ çözeltisinin absorbansı

m = örnek miktarı, g

Oksidasyon sonucunda peroksitler, aldehitler ve ketonlar oluşurken bunların toplam değeri de totoks (toplam oksidasyon) değerini vermektedir ve CRN (The Council for Responsible Nutrition, Uluslararası Beslenme Konseyi) tarafından belirlenmiş ve kullanılmakta olan bir standart ölçü birimidir. Totoks değeri aşağıda verilen formülle hesaplanabilir;

$$\text{Totoks Değeri} = 2(PV) + (pAV)$$

PV: Peroksit Değeri;

AV: p-anisidin değeri (aldehitler, ketonlar).

İstatistiksel Analizler: Deneme gruplarına ait analizlerden elde edilen sonuçlar arasındaki farkların istatistiksel olarak önemli olup olmadığı “SPSS for Windows 22.0” programı ile tek yönlü ANOVA analizi yapılarak test edilmiş olup ortalamalar arasındaki farklılıklar Tukey testi ile karşılaştırılmıştır.

BULGULAR

Analiz sonuçları incelendiğinde oda sıcaklığında (+24°C) depolanan örneklerin 45 günlük depolama süresince p-anisidin değerlerinin istatistiksel olarak farklı olmadığı, bununla beraber peroksit değerlerine bakıldığında 45. gündeki ölçümün önemli bir fark oluşturduğu görülmektedir ($p<0,05$). Depolama süreleri arasındaki istatistiksel

karşılaştırma, peroksit, p-anisidin ve totoks değerleri Tablo 2’de verilmiştir.

Buzdolabı şartlarında (+4°C) depolanan örneklerde ise 0. ve 30. gündeki peroksit ölçümlerinin 15. ve 45. gündeki ölçümlerden farklı olduğu ($p<0,05$); p-anisidin değerlerinde +4°C’de sadece 30. günde farklılık olduğu, bununla birlikte totoks değerlerine bakıldığında 45 günlük sürede elde edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p>0,05$).

Gün bazından (24°C ve 4°C arasındaki farklar) bakıldığında peroksit sayısında 15. ve 45. günde farklılık olduğu, p-anisidin değerinin 30. günde farklı olduğu ve bununla birlikte totoks değeri incelendiğinde sadece 45. gündeki sürede anlamlı bir fark olduğu görülmektedir ($p<0,05$).

Tablo 2. Depolama süreleri arasındaki istatistiksel karşılaştırma.

Table 2. Statistical comparison between storage times.

Günler	Peroksit sayısı (meqO ₂ /kg)		P-anisidin (meqO ₂ /kg)		Totoks değeri (meqO ₂ /kg)	
	+24°C	+4°C	+24°C	+4°C	+24°C	+4°C
0.Gün	5,94±0,40 ^a	6,83±1,26 ^a	6,21±0,02 ^a	6,42±0,47 ^a	18,09±0,82 ^b	20,08±2,98 ^a
15.Gün	5,64±0,58 ^a	4,61±0,26 ^b	7,20±0,40 ^a	8,13±0,09 ^a	18,49±1,39 ^a	17,35±0,56 ^a
30.Gün	6,54±1,04 ^a	6,07±0,69 ^a	6,15±1,26 ^a	5,38±0,45 ^b	19,38±1,66 ^a	16,77±0,13 ^a
45.Gün	8,86±0,95 ^c	4,91±0,07 ^b	7,23±1,22 ^a	8,08±0,23 ^a	24,94±1,30 ^b	17,89±0,33 ^a

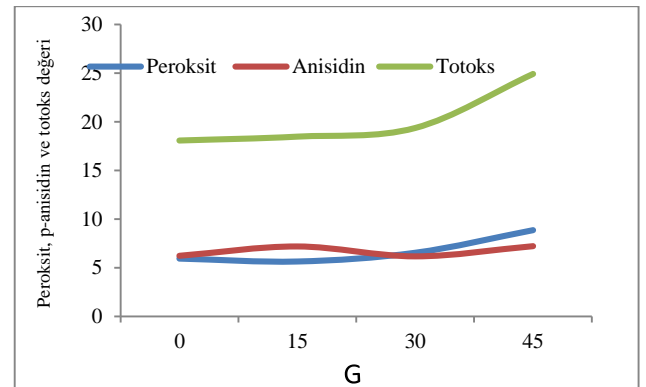
Her değer; ortalama ± standart sapmayı ifade etmektedir. Aynı sütunda farklı üst simge olarak harflerle ifade edilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0,05$).

TARTIŞMA VE SONUÇ

Balık yağlarında yüksek seviyede bulunan PUFA’ların oksidasyona karşı korunması yemlerin daha uzun bozulmadan dayanabilmesi ve sürdürülebilir olması için gerekmektedir. Balık yağlarında bulunan PUFA’lar hayvansal yağlarda bulunan MUFA’lara göre oksidasyona karşı daha hassastır. Yağ oksidasyonu, oksijen de eklendiği bir dizi istenmeyen kimyasal reaksiyonlar serisidir ve hidrojenler de elektronlar da yağların kalitesini düşürmektedirler. Oksidasyon sonucunda tatta bozulmalar ve acılaşmalar meydana gelmektedir. Ek olarak yemlerin fiziksel kalitesi, örneğin renk, koku gibi özellikleri ve besinsel kompozisyon kalitesi de oksidasyon yüzünden düşülebilmektedir (Kasmiran, 2016).

Lipid oksidasyonu serbest radikallerin yıkım reaksiyonları olup birçok mekanizma tarafından tetiklenmektedir bunlar da, tekli oksijen ya da peroksit radikalleri, oksijen ve ışık kaynakları, demir gibi maddelerdir. Lipid oksidasyonun balıktaki birçok önemli tetikleyicisi olup bunlar da hemoglobindeki demir ve süreç sırasındaki sıcaklık ve oksijen varlığıdır. Lipid oksidasyon ürünleri sadece kötü tat ve kokunun dışında, sitotoksik ve genotoksik etkilerde de bulunabilirler. Bu maddelerin emilimi düşük yoğunluklu lipoprotein sitotoksitesine, atherogenesis ve atherosiklerosisine neden olabilir bu da karaciğerde besin yönlü toksisiteden dolayı büyümeye neden olmaktadır (Kasbo, 2011).

Yağların oksidasyonu zamanla ölçüldüğünde peroksit sayısı arttıktan sonra zamanla düşmekte, anisidin değeri bir süre durduktan sonra yükselmekte, totoks değeri ise yükselen bir grafik sergilemektedir (Kasmiran, 2016). Şekil 1’de +24°C sıcaklığında, Şekil 2’de ise buzdolabı şartlarında (+4°C), peroksit, anisidin ve totoks değerlerinin zamanla dağılımı gösterilmektedir.

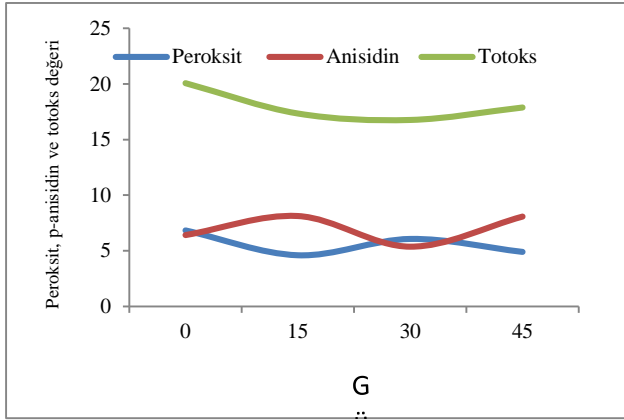


Şekil 1. +24°C sıcaklıkta zamana göre peroksit, p-anisidin ve totoks konsantrasyonlarının dağılımı.

Figure 1. Distribution of peroxide, p-anisidine and total oxidant concentrations by time at +24°C.

Yang vd. (2014), 4 haftalık deneme boyunca okside balık yağının etkilerinin büyüme performansı ve oksidatif stres açısından etkilerini *Litopenaeus vannamei* üzerinde çalışmış ve 5 farklı düzeylerde okside olmuş (0, 25,50, 75 ve 100 g/kg) 5 farklı yemle aynı oranda beslenmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre 50,75 ve 100 g/kg okside olan yemlerle beslenen gruplarda vücut ağırlık

artışının ve spesifik büyüme oranının düşük olduğu, hepatosomatik indeksin arttığı, toplam antioksidan kapasitesi gruplarda kontrol grubuna göre düşük olduğu gözlenmiş bunların da artan oksidasyon oranlarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 2. Buzdolabı şartlarında (+4°C) zamana bağlı peroksit, p-anisidin ve totoks konsantrasyonlarının değişimi.

Figure 2. Change of time dependent peroxide, p-anisidine and tototox concentrations in refrigerator conditions (+4°C).

Chen vd. (2012), farklı oranlarda okside olmuş (11,5 meq/kg, 132 meq/kg, 277 meq/kg ve 555 meq/kg) balık yağı içeren 4 isonitrojenik ve isolipidik yemin 12 hafta boyunca kullanılması sonucunda balıkların yaklaşık %9'unda dorsal, pektoral ve kuyruk yüzgeçlerinde hemorajilere rastlanmış ve ayrıca okside yağ tüketimi sonucu olarak da plazma, karaciğer ve dokularda vitamin E konsantrasyonlarının azaldığı görülmüştür.

Yapılan diğer bir çalışmada 61 günlük deneme süresince okside balık yağının (0, 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 g/kg yem) kedi balığı üzerinde (*Leiocassis longirostris*, Günther) sindirilebilirlik oranı düştüğü, kuru madde, protein ve yağ oranı, büyüme performansını etkilemediği, 1. ve 2. bölgede renklemeyi etkilemezken 3. bölgede düşüş görüldüğü, okside yağın 3. bölgede melanin miktarını arttırdığı, serumdaki TBA ve reaktiflerinin karaciğer ve kaslarda bir etkisi olmadığı, kuyruk bölgesinde renklemenin düşük olduğu melaninin pozitif korelasyonda olduğu görülmüştür (Dong vd. 2011).

Solomon vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada 3 farklı ticari yemde (Biri ağzı tamamen açık, diğeri halkayla hava teması kesilmiş ve öteki tamamen kapalı olarak yem) peroksit düzeylerine bakmışlardır. Sırasıyla peroksit sayılarını ağzı önce açılıp sonradan havayla teması kesilmiş grupta yemlerde 16,09±3.48; 18,73±0.81; 20,88±2.76 bulmuşlardır. Bu değerler bizim çalışmamızdaki peroksit sayısı değerlerine göre yüksektir.

Soydan ve Erdoğan (2019) çalışmalarında, hamsi yağında depolanma sırasındaki oksidasyonu gözlemlemişler, antioksidan takviyeli örnekler (B, C, D > 5 meq kg⁻¹), 45. günde okside olmuş, ancak kontrol ve A grubu (300 mg propil gallat (PG)+10 mg biberiye ekstraktı

(BE)/1000 mg) 75. günde okside olmuştur. İlaveten totoks değeri 90 günlük depolama boyunca GOED (<26) limiti altında hesaplanmıştır ve bizim çalışmamızda da 45. günde benzer değerler bulunmuş, bu açıdan da benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak; balık yemlerinde ilk 30 günlük sürede +24°C sıcaklığında veya +4°C'de depolanması arasında totoks değeri açısından istatistiksel önemli bir fark ve sorun olmadığı; ancak, 45 günlük depolamada +4°C'de saklanan yemlerde oda sıcaklığında (+24°C) saklanan yemlere göre totoks değerlerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Yemlerin ortam sıcaklığındaki, totoks üst limit değerine bakıldığında belirgin ölçüde yaklaştığı (25), fakat tavsiye edilen değeri aşmadığı görülmüştür. İleriki çalışmalarda, iki farklı sıcaklıkta depolanmış yemlerdeki totoks değerlerinin, balıkların büyüme parametrelerini, hematolojik verileri nasıl etkilediği üzerinde durulması, yetiştiricilik uygulamalarına ışık tutacaktır.

KAYNAKLAR

- Alltech. (2019).** Alltech Global Feed Survey (Erişim tarihi: 14 Ağustos 2019 www.alltech.com)
- Ariman Karabulut, H., Kurtoğlu, İ.Z., Yüksek, T. & Osmanoğlu, M.İ. (2016).** Balık Yemlerinde Hayvansal Protein Kaynağı Olarak Solucan Ununun Kullanım. *Journal of Anatolian Environmental & Animal Sciences*, *1*(2), 64-69.
- AOCS. (1990).** *Sampling and analysis of commercial fats and oils. Official methods and recommended practices.*
- AOCS. (2017a).** *Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils.* Official Methods and Recommended Practises. AOCS official method Cd 8-53, Peroxide value; Cd 8-53. Champaign, Illinois: American Oil Chemists Society.
- AOCS. (2017b).** *Sampling and Analysis of Commercial Fats and Oils.* Official Methods and Recommended Practises, AOCS official method Cd 18-90, P-anisidine value; Cd 18-90. Champaign. Illinois: American Oil Chemists Society.
- Chen, Y.J., Liu, Y.J., Yang, H.J., Yuan, Y., Liu, F.J., Tian, L.X., Liang, G.Y. & Yuan, R.M. (2012).** Effect of dietary oxidized fish oil on growth performance, body composition, antioxidant defence mechanism and liver histology of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*. *Aquaculture nutrition*, *18*(3), 321-331. DOI: [10.1111/j.1365-2095.2011.00900.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00900.x)
- Dong, X.L., Lei, W., Zhu, X.M., Han, D., Yang, Y.X. & Xie, S.Q. (2011).** Effects of dietary oxidized fish oil on growth performance and skin color of

- Chinese longsnout catfish (*Leiocassis longirostris* Günther). *Aquaculture nutrition*, **17**(4), 861-868. DOI: [10.1111/j.1365-2095.2011.00854.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2011.00854.x)
- Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, (2019)** Gıda Analizleri ve Teknolojisi Laboratuvar Föyü, <https://gida.erciyes.edu.tr/upload/DGBZAJ06.-hafta-yaglarda-peroksit-sayisi-tayini-1.pdf>
- FAO. (2020).** Fisheries and aquaculture statistics. (Erişim Tarihi: 11 March 2020)
- FAO/WHO FOOD STANDARDS PROGRAMME CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION, (2015).** Committee of Fats and Oils, Thirty-eighth Session CICG, Geneva, Switzerland 6-11 July 2015.
- Frankel, E.N. (2005).** *Lipid oxidation*. Bridgewater: Oily Press. XVI, 470pp.
- Kasbo, M. K. (2011).** *Antioxidants stabilizing fish oils effect of antioxidant, storage temperature and type of fish oil*. Norwegian University, Msc Thesis. 126pp.
- Kasmiran, B. (2016).** *Comparison and Evaluation of the quality of fish oil and fishmeal extracted from the heads of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) and albacore tuna (*Thunnus alalunga*)*. Nations University Fisheries Training Programme, Iceland [Final Project].
- National Research Council. (NRC) (2002).** RB Working group raises the quality bar for long chain omega-3 EPA ve DHA products.
- Olsen, E. (2005).** *Analysis of early lipid oxidation in foods with n-3 fatty acids*. ISBN: 82-575- 0672-9 Doctor scientiarum. Ås: University of Life Sciences. 74pp.
- Solomon, S.G., Tihamiyu, L.O., Okomoda, V.T. & Adaga, K. (2016).** Effect of storage conditions on quality characteristics of commercial aquafeeds and growth of African Catfish *Clarias gariepinus*. *Croatian Journal of Fisheries*, 30-37. DOI: [10.1515/cjf-2016-0006](https://doi.org/10.1515/cjf-2016-0006).
- Soydan, M.G. & Erdoğan, F. (2019).** Effects of various antioxidants on oxidative stability of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) oil, *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **36**(4), 367-372. DOI: [10.12714/egejfas.36.4.07](https://doi.org/10.12714/egejfas.36.4.07)
- TUİK. (2020).** Su Ürünleri İstatistikleri, (Erişim tarihi: 5 Haziran 2020). www.tuik.gov.tr
- TurkiyemBir. (2019).** Türkiye Yem Sanayicileri Birliği. (Erişim tarihi:14 Ağustos 2019 www.yem.org.tr)
- Yang, S.P., Liu, H.L., Wang, C.G., Yang, P., Sun, C.B. & Chan. S.M. (2014).** Effect of oxidized fish oil on growth performance and oxidative stress of *Litopenaeus vannamei*, *Aquaculture nutrition*, **21**(1), 121-127. DOI: [10.1111/anu.12143](https://doi.org/10.1111/anu.12143).



DÜZELTME

Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi, Cilt: 5, Sayı: 1 s: 100-105, Mart 2020 sayısında yayınlanan “Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yavrularında Görülen Gaz Kabarcığı Hastalığı ve Tedavisi Üzerine Bir Araştırma” başlıklı özgün makalenin atf yapmak için bilgileri aşağıdaki gibi düzeltilmiştir. Bilgilerinize sunulur.

Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi Yayın Kurulu

ERRATUM

The order of how to cite of the manuscript entitled “A Study on Gas Bubble Disease and Treatment Observed in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry” published Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences Volume: 5, Issue: 1 pp: 100-105, in March 2020, are corrected as follows.
It is kindly submitted to your information.

Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences Editorial Board.

*Atf yapmak için: Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2020). Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yavrularında Görülen Gaz Kabarcığı Hastalığı ve Tedavisi Üzerine Bir Araştırma. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(1), 100-105.*
*How to cite: Balta, F. & Dengiz Balta, Z. (2020). A Study on Gas Bubble Disease and Treatment Observed in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fry. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 5(1), 100-105.*
