



Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences

(Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi)

E-ISSN 2548-0006

*JAES*

*AÇEH*

31.03.2021

# *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*

*Journal of Anatolian  
Environmental and Animal Sciences*

**Cilt/Volume 6 • Sayı/Number 1 • 2021**



**Sahibi**

Prof. Dr. Bülent VEREP

Prof. Dr. Fikri BALTA

**Sorumlu Yazı İşleri Müdürü**

**Baş Editör / Editor-in Chief**

Prof. Dr. Bülent VEREP

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

**Baş Editör Yardımcıları / Co-Editor in Chief**

Prof. Dr. Fikri BALTA

Prof. Dr. Turan YÜKSEK

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

**Editör Yardımcıları / Co-Editors**

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

**Editörler Kurulu / Editorial Boards**

Prof. Dr. Ahmet ALP, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi  
Prof. Dr. Athanasios KUNGOLOS, School of Engineering, Aristotle Univ. of Thessaloniki, Greece  
Prof. Dr. Cemalettin ŞAHİN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Prof. Dr. Davut TURAN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Prof. Dr. Gökhan ABAY, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Güzel San. Tas. ve Mim. Fakültesi  
Prof. Dr. Gülay ÇİFTÇİ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Prof. Dr. Ilia TSACHEV, Trakia University Faculty of Veterinary Medicine  
Prof. Dr. İhsan AKYURT, Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi (Emekli Öğretim Üyesi)  
Prof. Dr. İlkyay Erdoğan ORHAN, Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi  
Prof. Dr. Junho JUNG, Korea University Env. Sci. and Eco. Eng.  
Prof. Dr. Levent BAT, Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Prof. Dr. Mehmet Salih ÇELİKKALE, KTÜ Deniz Bilimleri Fakültesi (Emekli Öğretim Üyesi)  
Prof. Dr. Muhammed TÜRKÖĞLU 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 EMMANOÜL, Aristotle University of Thessaloniki School of Engineering  
Dr. Tuba ERGÜL KALAYCI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

**Bölüm Editörleri / Section Editors**

Prof. Dr. Ali BİLGİN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi  
Prof. Dr. Ahmet Mutlu GÖZLER, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Prof. Dr. Erol ÇAPKIN, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi  
Prof. Dr. Fatih İSLAMOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi  
Prof. Dr. Nadir Başçınar, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi  
Prof. Dr. Ramazan SEREZLİ, İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Prof. Dr. Serhat KÜÇÜKALİ, Çankaya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi  
Prof. Dr. Temel ŞAHİN, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Denizcilik Fakültesi  
Doç. Dr. Aysun TÜRKMEN, Giresun Üniversitesi, Teknik Bilimler MYO  
Doç. Dr. Cemalettin BALTACI, Gümüşhane Üniversitesi, Gıda Bilimleri ve Mühendisliği  
Doç. Dr. Coşkun ERÜZ, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Fakültesi  
Doç. Dr. Ekrem Şanver ÇELİK, 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. Şükrü ÖNALAN, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Muhammed DUMAN, Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi  
Dr. Erhan ÇİLOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Denizcilik Fakültesi  
Dr. Engin Derya GEZER, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi  
Dr. Fatma Delihan SONAY, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Gökhan KALAYCI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Hakan KARAOĞLU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Koray ÖZSEKER, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Deniz Bilimleri Enstitüsü  
Dr. Oğuz KURDOĞLU, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Orman Fakültesi  
Dr. Ayşe DEMİRBAŞ, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Mînevver ORAL, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Ög. Üyesi Salih KUMRU, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Dr. Ög. Üyesi Şafak KALINDAMAR, Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi  
Dr. Ömer Lütfü ÇORBACI, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Güzel San. Tas. ve Mim. Fakültesi  
Nimet Selda BAŞÇINAR, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü

**Yönetim Yeri Adres / Address**

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

Tel: 90 464 223 33 85-1438 ve 1436

Fax: 90 464 223 41 18

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

Yayın Türü: Yaygın süreli ve hakemli

Yayın Tarihi: 31.03.2021

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

İnternet Adreslerimiz / Web Addresses

http://dergipark.gov.tr/jaes



İÇİNDEKİLER / TABLE OF CONTENTS

İçindekiler Contents	Makale Article	Sayfa No Page No
		1-3
Pişirmeye Hazır Marine Edilmiş Palamut Balığı ( <i>Sarda sarda</i> )'nın Dondurularak Depolama (-18°C) Boyunca Lipit ve Duyusal Kalite Parametrelerindeki Değişimin İncelenmesi.	Araştırma	
Investigation of Lipid and Sensory Quality Parameters of Ready to Cook Marinated Atlantic Bonito ( <i>Sarda sarda</i> ) During Frozen Storage (-18°C).	Research	4-13
<b>Filiz SAYGUN &amp; Bahar TOKUR</b> Presence of the Pacific oyster ( <i>Crassostrea gigas</i> Thunberg, 1793) in the Black Sea.	Research	
Pasifik istiridyasının ( <i>Crassostrea gigas</i> Thunberg, 1793) Karadeniz'de varlığı.	Araştırma	14-17
<b>Mehmet AYDIN &amp; Mustafa GÜL</b> Korunga ( <i>Onobrychis vicifolia</i> Scop.) Genotiplerine Ait Tohumların Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi.	Araştırma	
Determination of Physical Properties Seeds of Sainfoin ( <i>Onobrychis vicifolia</i> Scop.) Genotypes.	Research	18-24
<b>Zeynep DUMANOĞLU, Erdal ÇAÇAN &amp; Kağan KÖKTEN</b> Farklı Sucul Sistemlerden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması.	Araştırma	
Comparison of Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Different Aquatic Systems.	Research	25-30
<b>Neslihan GÜNGÖR, Zeynep Zehra İPEK, Akif ER &amp; Şevki KAYIŞ</b> The evaluation of Avian Influenza and Coronavirus as Pathogenic Enveloped Viruses for Possible Health Risk in Seafood: A Review.	Review	
Su Ürünlerinde Patojenik Zarflı Virüsler Olarak Avian Influenza ve Koronavirüsün Olası Sağlık Riski Bakımından Değerlendirilmesi: Derleme.	Derleme	31-42
<b>Bahar TOKUR &amp; Koray KORKMAZ</b> Changes in Length-Weight Relationships of Three Different Commercial Sea Cucumber During Processing and Corrected of Fisheries Data.	Research	
Ticari Üç Farklı Deniz Hıyarı Türünün İşleme Sırasındaki Boy-Ağırlık Değişimleri ve Düzeltilmiş Avcılık Verileri.	Araştırma	43-49
<b>Gökhan BALLIKAYA, Mehmet AYDIN &amp; Serkan ERKAN</b> Comparison Of Heavy Metal Absorption Of Some Algae Isolated From Altınapa Dam Lake (Konya).	Research	
Altınapa Baraj Gölü'nden (Konya) İzole Edilen Bazı Alglerin Ağır Metal Absorpsiyonlarının Karşılaştırılması.	Araştırma	50-56
<b>Numan Emre GÜMÜŞ, Baran AŞIKKUTLU, Hatice Banu KESKİNKAYA &amp; Cengiz AKKÖZ</b> Balık Unu Kalitesine Balık Tazeliğinin Etkisi; Hamsi Unu.	Araştırma	
Effect of Freshness on Fish Meal Quality; Anchovy Meal.	Research	57-65
<b>Barış BAYRAKLI &amp; Hünkar Avni DUYAR</b> Comparative genomics insight into phytopathogenic <i>Xanthomonas arboricola</i> pathovar <i>corylina</i> strains.	Research	
Fitopatojenik <i>Xanthomonas arboricola</i> patovar <i>corylina</i> suşlarına karşılaştırmalı genomik bakış.	Araştırma	66-71
<b>Şafak KALINDAMAR</b> Zorkal Yaylasının (İkizdere-RİZE) Mera Özellikleri ve Botanik Kompozisyonun Belirlenmesi.	Araştırma	
Determination of Pasture Characteristics and Botanical Composition of Zorkal Plateau (İkizdere-RİZE).	Research	72-76
<b>Adil BAKOĞLU, Hüseyin BAYKAL &amp; Muhammed İkbâl ÇATAL</b> Determination of the Effect of Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel ( <i>Dreissena polymorpha</i> ) by Some Antioxidant Enzyme Activities.	Research	
Cyfluthrin Pesticidinin Zebra Midyesi ( <i>Dreissena polymorpha</i> ) Üzerindeki Etkisinin Bazı Antioksidan Enzim Aktiviteleriyle Belirlenmesi.	Araştırma	77-83
<b>Osman SERDAR</b> Sexual Morphometric Variation in Pronotum of <i>Dorcadion anatolicum</i> Pic, 1900 (Cerambycidae: Coleoptera).	Research	
<i>Dorcadion anatolicum</i> Pic, 1900 (Cerambycidae: Coleoptera) Pronotumunda Eşeyssel Morfometrik Varyasyon.	Araştırma	84-87
<b>Aslı DOĞAN SARIKAYA &amp; Atlay Yağmur OKUTANER</b> Sexual Dimorphism of the Pronotum in <i>Dorcadion micans</i> J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) Using Geometric Morphometrics.	Research	
<i>Dorcadion micans</i> J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) Pronotumunda Geometrik Morfometri Kullanarak Eşeyssel Dimorfizm.	Araştırma	88-91
<b>Atlay Yağmur OKUTANER &amp; Aslı DOĞAN SARIKAYA</b> Temel Amino Asitlerin Erkek <i>Pimpla turionellae</i> L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvalarının Gelişmesine ve Sentezledikleri Protein miktarına Etkileri.	Araştırma	
Effects of essential amino acids on development and synthesised protein amount of male larvae of <i>Pimpla turionellae</i> L. (Hymenoptera: Ichneumonidae).	Research	92-98
<b>Mehmet SULANÇ</b> Artvin-Genya Dağı Yöresi Doğu Ladini ( <i>Picea orientalis</i> Lipsky) Ormanlarında Topraküstü Biyokütleinin Belirlenmesi İçin Denklemler Geliştirilmesi.	Araştırma	
Development of Equations to Determine Aboveground Biomass of Oriental Spruce ( <i>Picea orientalis</i> Lipsky) Forests in Artvin-Genya Mountain Region.	Research	99-105
<b>Mimar Sinan ÖZKAYA</b> Yumurtacı Bildirici Rasyonlarında Beta Vinas Kullanımının Performans, Yumurta Verimi ve Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri.	Araştırma	
Effects of Beta Vinasase Using on Performance, Egg Production and Egg Quality in Layer Quail Diets.	Research	106-111
<b>İsmail ÇETİN, Derya YEŞİLBAG &amp; Ş. Şule CENGİZ</b> Investigation of <i>Momordica Charantia</i> Effects on Foot Inflammation Model in Rats and Behavioral Changes Due to This Inflammation; Experimental Model.	Research	
<i>Momordica Charantia</i> 'nın Ratlarda Oluşturulan Ayak İnflamasyon Modeli ve Buna Bağlı Olarak Gelişen Davranış Değişiklikleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi.	Araştırma	112-119
<b>Aybike TÜRKMEN, Ali TAGHIZADEHGHALEHJOUGH, Maryam MOHAMADZADEH AKIN, Sidika GENÇ &amp; Ahmet HACIMUFTUOĞLU</b> Akarçay Akarsuyu (Afyonkarahisar) Su Kalitesi ve Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesi.	Araştırma	
Determination of Water Quality and Heavy Metal Pollution of Akarçay Stream (Afyonkarahisar).	Research	120-127
<b>Numan Emre GÜMÜŞ</b> Testiküler Doku Kriyoprezervasyonu.	Araştırma	
Testicular Tissue Cryopreservation.	Research	128-134
<b>Cumali KAYA, Melih AKAR, Eser AKAL &amp; Mesut ÇEVİK</b> The Effect of Using Peanut Meal Instead of Soybean Meal on Growth, Biochemical Composition and Fillet Color of Rainbow Trout ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum, 1792).	Araştırma	
Soya Küspesi Yerine Yer Fıstığı Küspesinin Kullanımının Gökkuşuğu Alabalığında ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> Walbaum, 1792) Büyüme, Biyokimyasal Kompozisyon ve Fleto Rengine Etkisi.	Research	135-141
<b>Seval DERNEKBAŞI, Dilara KAYA ÖZTÜRK &amp; İsmihan KARAYÜCEL</b>		



**\*Corresponding author's:**  
Bahar TOKUR  
ODU Fatsa Faculty of Marine Sciences.  
Fishing Tech. Eng. Department,  
Fatsa / Ordu, Turkey  
✉: baharorhun@gmail.com

29.39 ± 0.41 %, respectively. In marinated bonito, total saturated fatty acid ( $\Sigma$ SFA) amount, total monounsaturated fatty acid ( $\Sigma$ MUFA) amount and total polyunsaturated fatty acid ( $\Sigma$ PUFA) amount were found to be 25.43 ± 0.90%, 38.67 ± 1,24% and 27.59 ± 0.92%, respectively. According to sensory analyze, although the control group exceeded the limit of consumption according to odor, flavor and general acceptability at the end of storage, it was determined that the marinated Atlantic bonito could be consumption level in all sensory parameters.

**Keywords:** Fatty acids composition, frozen storage, *Sarda sarda*, marination, rancidity, ready to cook .

## GİRİŞ

Kökeni İtalyanca olan marinasyon kelimesi "marinare" den gelmektedir (McEvoy, 2003). Marinasyon terimi, 17. yüzyıldan itibaren et ve balığın salamurada bekletilmek suretiyle korunması anlamını taşımaktaydı. Fakat günümüzde marinasyon için daha farklı tanımlamalar yapılmaktadır (Brandt, 2001). Marinasyon, Lemos vd., (1999) tarafından tüketicinin isteğine göre etlerin sululuğunu ve lezzetini geliştirmek ve daha yumuşak hale getirmek amacıyla mutfaklarda kullanılan bir teknik olarak tanımlanmışlardır. Tan, (2002), etin pişirilmeden önce sirke, tuz, yağ ve baharatlarla harmanlanması olarak ifade etmektedir. Parks vd., (2000) ise marinasyonu şeker, asit, fosfat, tuz, baharat ve aroma vericilerden oluşan sulu çözeltinin farklı tekniklerle ete uygulanması olarak ifade etmiştir. Genel olarak evlerde de sıklıkla uyguladığımız marinasyon, çeşitli hayvan etlerinin (balık, tavuk, kırmızı et) lezzet ve aromasının artırılması, yumuşatılması ve gevrekleştirilmesi, için tuz, sirke, limon, sıvı yağ, salça, soğan, sarımsak, çeşitli baharatlar ve/veya diğer bazı katkı maddeleriyle (fosfatlar ve organik asitler gibi) muamele edilmesi işlemi olarak tanımlanabilir. Marinasyonda kullanılan ve katkı maddelerinden oluşan sıvıya da marinat denilmektedir (Ergezer & Gökçe, 2004). Marinasyon işleminde kullanılan katkı maddelerinin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ürünün sadece tadını etkilememekte aynı zamanda ürünün kalitesini ve raf ömrünü de arttırmaktadır (Björkroth, 2005; Shylaja & Peter, 2004).

Ticari marinasyon işlemi temelde, tumburlama, daldırma (durgun marinasyon) ve enjeksiyon olmak üzere üç farklı şekilde yapılmaktadır (Smith & Acton, 2001; Xargayo vd., 2001). Geleneksel yöntem olarak adlandırılan daldırma yöntemi (durgun marinasyon) en eski ve en basit marinasyon yöntemidir. Bu yöntemde, içerisinde marinat bulunan tanklara etler doldurularak +4-7 °C'de en az bir gün bekletilir ve bu süre içerisinde marinatta bulunan katkı maddeleri süreye bağlı olarak ete difüze olur (Smith & Acton, 2001). Bunlar arasında daldırma yöntemi oldukça basit ve ev ortamında da uygulanabilen temel bir yöntemdir. Bu yöntemin en büyük avantajları uygulama kolaylığı, ucuzluğu (ilave ekipmana ihtiyaç göstermez), derili veya derisiz etlere uygulanabilmesi ve küçük kapasitelerde çalışılabilmesidir (Ergezer & Gökçe, 2004; Duyar & Eke, 2009). Ancak bu uygulamanın evde yapılması durumunda

en büyük dezavantajı, balığın buzdolabında marinat solüsyonunda belli bir süre dinlendirilmesinin uzun zaman alan bir işlem olmasıdır. Özellikle yoğun iş temposu ve teknolojinin gelişmesi gibi nedenlerle insanlar uzun zaman alan yemeklere vakit ayıramamaktadır. Bu nedenle, günümüzde hazırlanması ve pişirilmesi bakımından zamandan tasarruf sağlayan pişirmeye hazır gıdalara yönelik tüketici taleplerinde artış görülmektedir (Husein vd., 2020). *Scombridae* familyasından Atlantik palamutu (*Sarda sarda*, Bloch 1793), Akdeniz, Karadeniz, Atlantik ve Arjantin'in kuzeyinde yaygın olarak dağılmış ve ticari öneme sahip yağlı epipelajik bir deniz balığı türüdür (Collette & Nauen, 1983; Duyar vd., 2006; Duyar vd., 2020; Yoshida, 1980). 2017 TÜİK verilerine göre, palamut balığının ülkemizdeki toplam üretimi 7578 ton olarak belirtilmiştir (TÜİK, 2019). Avlama sezonunda yakalanan Atlantik palamutları raf ömrünün sınırlı olması nedeniyle genellikle dondurularak veya tuzlanarak muhafaza edilir (Koral & Köse, 2018). Dondurma ve dondurarak depolama, balığı ve balık ürünlerini en iyi şekilde muhafaza eden metotlardan biridir. Ancak, dondurarak depolama esnasında, lipid ve proteinlerin indirgenmesiyle meydana gelen istenmeyen bileşiklerden dolayı; balık ve balık ürünlerinin kalitesinde bozulmalar oluşmaktadır (Sikorski, 1980). Özellikle tüketici açısından çok önemli bir unsur olan tatta meydana gelen ve arzu edilmeyen değişmelere, lipidlerin oksidasyonundan ve proteinlerin indirgenmesinden dolayı ortaya çıkan düşük moleküler ağırlıklı bileşiklerin neden olduğu bilinmektedir. Özellikle oksidatif acılaşıma, dondurarak depolama sırasında balıkların raf ömrünü sınırlayan önemli bir faktördür. Bu çalışmada, marinasyon sosunda bekletildikten sonra direkt pişirmeye hazır fırın paketlerinde dondurularak depolanan (-18 °C) palamut (*Sarda sarda*)'un lipid ve duyu kalitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Materyal

Bu çalışmada, materyal olarak 348,42 ± 11,17 gortalama ağırlığında ve 30,52 ± 0,78 cm boyunda 24 adet palamut (*Sarda sarda* Bloch, 1793) Aralık ayında yerel bir balıkçıdan temin edilmiştir. Marinasyon sosunda kullanılan kuru soğan, sarımsak, limon, riviera zeytinyağı, tuz, pul biber ve karabiber ise yerel bir marketten satın alınmıştır.

## Yöntem

**Marinasyon İşlemi:** Boyları ve ağırlıkları ölçülen balıkların kafa ve iç organları temizlenip yıkandıktan sonra iyice süzülmesi sağlanıp, dilimlenerek iki eşit (3 kg) gruba ayrılmıştır. Marinasyon sosu için % 40 rendelenmiş kuru soğan, % 1 sarımsak, % 17 limonun suyu, % 39 riviera zeytinyağı, % 1 tuz, % 1 kırmızı pul biber, ve % 1 karabiber kullanılmıştır.

Belirlenenmiktarlarda hazırlanan sos malzemeleri bir kabın içine konularak iyice karıştırılmış ve marine edilecek palamutlar bu sos içerisine alınarak bir gece (12 saat) buzdolabında (4 ±2 °C) bekletilmiştir. Marine edilen balıklar sos içerisinden alınarak -40 °C'de 3 saat şoklama işlemi yapıldıktan sonra kimyasal analiz için 350g, duyuusal testler için 150g olmak üzere tartılarak 25×38 cm ebatlarındaki fırın poşetlerine konulmuştur. Kontrol grubu ise -40 °C 'de 3 saat şoklama işleminin ardından saf suya daldırılarak "glaze" işlemi yapılmış ve tartılarak fırın poşetlerine yerleştirilmiştir. Daha sonra paketlenmiş donmuş marinasyon ve kontrol grubu örnekleri -18 °C'de depolanmıştır.

**Kimyasal Analiz:** Kontrol grubu ve marine palamutların besin maddesi kompozisyonunu belirlemek amacıyla ham protein (%) Kjeldahl metoduna (AOAC, 1995) göre, nem (%) ve ham kül analizi AOAC (1990) metoduna göre, lipit (%) Bligh and Dyer (1959)'in uyguladığı yöntemle göre yapılmıştır. Dondurarak depolama boyunca lipit kalitesinde meydana gelen değişimi tespit etmek amacıyla tiyobarbitürik asit (TBA, mg malonaldehit / kg et) analizi Tarladgis vd., (1960)'nın uyguladığı yöntemle göre analiz edilmiştir.

Yağ asidi metil esterleri (FAME), ekstrakte edilmiş lipitten, Ichihara vd., (1996) metoduna göre yapılmıştır. Bunun için, 4 ml 2M'lık KOH ve 2 ml n-heptan ekstrakte edilmiş yağ örneği (25 mg) üzerine ilave edilmiştir. Daha sonra vortekste 2 dakika oda sıcaklığında karıştırılmış ve 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Gaz kromatografisi (GC)'inde analiz için ekstraktaki heptan tabakası kullanılmıştır. Yağ asitleri kompozisyonu, 30m × 0.32mm ID × 0.25µm film kalınlığında SGE kolonlu ve alev iyonizasyon dedektörlü (FID) otomatik örnekleme (Perkin Emler, USA) GC (Gaz kromatografik) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Enjektör ve detektör sıcaklıkları sırasıyla önce 220 °C sonra 280 °C'ye ayarlanmış ve fırın sıcaklığı 140 °C'de 5 dakika tutulmuştur. Daha sonra 200°C'ye kadar, her dakika 4°C arttırılarak, 200 °C'den 220 °C'ye de her dakika 1 °C arttırılarak getirilmiştir. Taşıyıcı gazı kontrolü 16 ps'de ve 1 ml örnek ile sağlanmıştır. Split uygulaması 1:50 oranında gerçekleştirilmiştir. Standart 37 bileşenden oluşan FAME standart karışımının (Supelco 37 F.A.M.E. Mix C4-C24 Component, Catalogue No. 18919) gelme zamanlarına karşı yağ asitleri karşılaştırılarak yağ asitleri tanımlanmıştır. Yapılan iki GC analiz sonuçları %

olarak ifade edilmiştir. Balık etindeki eikosapentaenoik Asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) miktarları Weihrauch et al. (1975) tarafından belirlenen yöntemle göre aşağıdaki formülle hesaplanmıştır.

Yağ asidi (mg/100g balık eti) = 0.956 x FAME (%) x lipid düzeyi (%) x 10

**Duyusal Analiz:** Duyusal analiz, Paulus vd. (1979)'na göre yapılmıştır. Kontrol grubu ve marine palamutun koku, renk, doku yapısı, lezzet ve genel kabul edilebilirlik değerlerinde meydana gelen değişimler 1 ile 9 skalası baz alınarak deneyimli 5 panelist tarafından değerlendirilmiştir. Puanlama sisteminde 7-9 arası "çok iyi", 4.1-6.9 arası "iyi", 4 "tüketilebilirliği", 1-3.9 arası ise "kabul edilemezliği" göstermektedir. Duyusal analizlerde her iki gruba ait örnekler çözündürülmeden 200 °C'de fırında 40 dk pişirildikten sonra analiz edilmiştir.

**İstatistiksel Analiz:** Araştırmanın sonunda elde edilen veriler, IBM© SPSS© Statistics 25.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve marine palamutlardan elde edilen verilerin birbirleriyle karşılaştırmasında t-testi ve kendi aralarındaki zaman içindeki değişimleri belirlemede ise Duncan çoklu karşılaştırma testi, One-way ANOVA ile p<0.05 önem düzeyinde uygulanmıştır (Duncan, 1955).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

**Besin Kompozisyonu:** Çalışma sonucunda, kontrol grubunun nem (%), ham protein (%), lipit (%) ve ham kül (%) içeriği sırasıyla % 55,17, % 26,54, % 9,11 ve % 1,58 olarak bulunurken, marine palamudun nem (%), ham protein (%), lipit (%) ve ham kül (%) içeriği ise sırasıyla % 58,16, % 23,63, % 11,34 ve % 1,75 olarak saptanmıştır. Yapılan t testine göre gruplar arasında nem (%), ham protein (%), lipit (%) ve ham kül (%) değerleri bakımından önemli farklılıklar bulunmuştur (p<0,05).

Rzepka vd., (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, palamut balığı filetolarında % 26,8 ham protein ve % 1,8 ham kül içeriği ile bu çalışmada elde edilen ham protein ve kül değerlerine yakın değerler elde edildiği, buna karşılık % 66,8 nem ve % 4,5 yağ ile bu çalışmada elde edilen değerlerden farklı olduğu görülmüştür. Mol vd., (2012) ise, bizim bulduğumuz sonuçlardan farklı olarak Ekim 2009 yılında Karadeniz Bölgesi'nde yakalanan palamutların nem içeriğini % 69,19, ham protein içeriğini % 20,35, lipit içeriğini % 6,26 ve kül içeriğini % 3,12 olarak saptamışlardır. Yine Çorapçı, (2018) adlı çalışmanın taze palamut balığı için yapmış olduğu besin kompozisyonu analizinde nem, ham protein, yağ ve ham kül için bulunduğu değerlerin bizim çalışmamızda bulduğumuz değerlerden farklı olduğu görülmektedir. Tüm bu araştırma sonuçları, palamut balığının besinsel kompozisyonunda farklılıklar tespit edilebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde,

Karakoltsidis vd., (1995), palamut kaslarının biyokimyasal bileşimlerinde mevsimsel değişiklikler tespit etmiştir. Yine, Mısır vd., (2014) Karadeniz'den avlanan palamut balığında toplam lipit düzeyindeki aylık değişimleri incelediğinde, Ağustos ve Aralık ayına kadar % 4,0' dan % 13,5 kadar önemli oranda yükseldiği ve Mart ayında % 8,4 düzeyine düştüğünü belirtmiştir. Araştırmacılar, aylar arasında meydana gelen bu değişimin çoğunlukla eşeyssel olgunluğa ve yakalama periyoduna bağlı olarak değişebileceğini belirtmiştir. Zaboukas vd., (2006) ise, palamutlardaki lipit içeriğinin eşeyssel olgunluğa ve cinsiyete göre önemli oranda değiştiğini ve protein içeriğinin ise yumurtlama döneminde değişebileceğini belirtmiştir. Tülsner (1994), balıklarda saptanan farklı besin madde içeriklerinin sebebinin balığın türüne, yaşına, beslenme durumuna, avlanma mevsimine ve avlanma bölgesine göre değişebileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışmada tespit edilen besin kompozisyonundaki farklı değerlerin nedeninin yukarıda açıklanan sebeplerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Marine palamudun nem (%), ham protein (%), lipit (%) ve ham kül (%) içeriği sırasıyla % 58,09, % 23,63, %

11,34 ve % 1,75 olarak saptanmıştır. Marine palamuttaki besin kompozisyonu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, nem, lipit ve ham kül içeriğinin kontrol grubuna göre daha yüksek ( $p<0,05$ ), protein içeriğinin ise kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kontrol grubuna göre lipit ve ham kül oranında meydana gelen bu yükselmenin marinasyon sosunda kullanılan zeytinyağı ve baharatlardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ham protein oranındaki azalmanın ise nem, lipit ve kül miktarının yüksek olmasından kaynaklanan oransal bir azalma olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde, Rzepka vd., (2013), tuz ve şeker karışımı ile  $3\pm 1$  °C'de olgunlaşmak için beklettikleri palamutların besin kompozisyonunda farklılıklar oluştuğunu bununla sebebinin soğukta olgunlaştırma esnasında tuz ve şeker karışımının balığın etine nüfus etmesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

**Yağ Asidi Kompozisyonu:** Kontrol grubu ve marine palamutlarda, dondurularak depolamanın başlangıcında ve sonunda yağ asitleri kompozisyonunda meydana gelen değişimler Tablo 1' de gösterilmiştir.

**Tablo 1.** Dondurularak depolama boyunca kontrol ve marine palamutların yağ asitleri kompozisyonunda meydana gelen değişimler (-18 °C) (%)\*.  
**Table 1.** Changes in fatty acid composition of control and marinated bonito during frozen storage (-18 °C) (%)\*.

Yağ Asitleri	Kontrol		Marine	
	Başlangıç	4. Ay	Başlangıç	4. Ay
<b>Doymuş Yağ Asitleri (SFA)</b>				
C8:0	0,02±0,00	0,01±0,01	0,02±0,01	0,01±0,01
C12:0	0,05±0,00	0,05±0,00	0,04±0,00	0,04±0,00
C14:0	4,35±0,01*	4,13±0,04	2,87±0,09	3,23±0,13
C15:0	0,79±0,01	0,75±0,00	0,53±0,02	0,61±0,03
C16:0	18,11±0,21	17,67±0,01	16,08±0,65	16,93±0,37
C17:0	0,71±0,02	0,73±0,01	0,48±0,01	0,57±0,04
C18:0	5,12±0,11	4,90±0,03	4,18±0,10	4,42±0,09
C20:0	0,40±0,01	0,40±0,00	0,43±0,02*	0,46±0,01
C22:0	0,38±0,00	0,31±0,12	0,33±0,01	0,39±0,01
C24:0	0,84±0,03	0,87±0,02	0,50±0,01*	0,63±0,02
ΣSFA	30,77±0,40	29,80±0,14	25,43±0,90	27,27±0,68
<b>Tekli Doymamış Yağ Asitleri (MUFA)</b>				
C14:1	0,09±0,00	0,08±0,00	0,06±0,00	0,07±0,01
C16:1	5,03±0,02*	4,86±0,03	3,56±0,13	4,06±0,14
C17:1	0,46±0,01	0,51±0,00	0,40±0,01	0,46±0,03
C18: 1n-9	20,75±1,56*	19,59±0,18	33,36±1,30	28,09±2,09
C18: 1n-7	0,24±0,01	0,22±0,01	0,14±0,03	0,14±0,01
C20: 1n-9	1,42±0,03*	1,61±0,02	0,99±0,04*	1,34±0,04
C22: 1n-9	0,15±0,00	0,17±0,00	0,17±0,01*	0,13±0,00
ΣMUFA	28,13±1,62*	27,03±0,19	38,67±1,24	34,27±1,87
<b>Çoklu Doymamış Yağ Asitleri (PUFA)</b>				
C18:2n-6	2,53±0,12	2,67±0,06	5,52±0,35	4,82±0,00
C18:3n-3	1,01±0,01*	1,06±0,01	0,99±0,04	1,03±0,05
C18:3n-6	0,20±0,01	0,20±0,01	0,14±0,01	0,17±0,01
C20:2	0,14±0,01	0,22±0,04	0,11±0,00*	0,20±0,01
C20:3n-3	0,72±0,00	0,75±0,01	0,59±0,02	0,66±0,02
C20:3n-6	1,35±0,03	1,35±0,02	0,77±0,02*	1,08±0,03
C20:4n-6	0,33±0,02	0,34±0,00	0,23±0,01*	0,27±0,01
C20:5n-3	6,29±0,10	6,58±0,02	5,24±0,15	5,82±0,19
	(547,81 mg‡)	(573,06 mg‡)	(568,07 mg‡)	(630,95 mg‡)
C22:6n-3	16,84±0,46	17,85±0,06	14,01±0,36	15,79±0,50
	(1466,62 mg‡)	(1554,59 mg‡)	(1518,82 mg‡)	(1711,80 mg‡)
ΣPUFA	29,39±0,41	30,99±0,08	27,59±0,92	29,82±0,80
Σn-3	24,86±0,57	26,23±0,03	20,83±0,57	23,30±0,75
Σn-6	4,40±0,17	4,55±0,08	6,65±0,36	6,33±0,03
n-3/n-6	5,67±0,34	5,77±0,09	3,14±0,08	3,68±0,10
n-6/n-3	0,18±0,01	0,17±0,00	0,32±0,01	0,27±0,01
EPA+DHA	2014,43 mg‡	2127,65 mg‡	2086,89 mg‡	2342,75 mg‡

\*Aynı satırdaki \* istatistiksel olarak farklılığı göstermektedir ( $p<0,05$ ). ‡ 100 g palamut örneğindeki miktarı.

Çalışmada, kontrol grubu olarak herhangi bir işlem görmemiş palamutun, yağ asitleri kompozisyonu içinde en yüksek yağ asitleri olan C18: 1n-9, C22:6n-3 ve

C16:0'nin miktarları sırasıyla %20,75±1,56, %16,84±0,46 ve %18,11±0,21 olarak bulunmuştur. Mısır vd., (2014), Karadeniz bölgesinden avlanan palamut balıklarının aylık

yağ asidi değişimlerini inceledikleri çalışmalarında, palamutta başlıca yağ asitlerinin C18: 1n-9, C22:6n-3 ve C16:0 olduğu ve bunların miktarlarının aylık olarak farklılık gösterdiğini bulmuşlardır. Palamut balıklarında palmitik ve oleik doymuş ve tek doymamış yağ asitleri içinde dominat oldukları diğer araştırmacılar tarafından da bulunmuştur (Tanakol vd., 1999; Bayır vd., 2006). Benzer şekilde her ne kadar miktar olarak farklılık görülse de dominat yağ asitleri olarak marine palamutun C18: 1n-9, C16:0 ve C22:6n-3'in miktarları sırasıyla %33,36±1,30, %16,08±0,65 ve %14,01±0,036 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunun toplam doymuş yağ asidi ( $\Sigma$ SFA) miktarı % 30,77±0,40, toplam tekli doymamış yağ asidi ( $\Sigma$ MUFA) miktarı %28,13±1,62, toplam çoklu doymamış yağ asidi ( $\Sigma$ PUFA) miktarı % 29,39±0,41, olarak belirlenmiştir. Marine palamutun ise toplam doymuş yağ asidi ( $\Sigma$ SFA) miktarı % 25,43±0,90, toplam tekli doymamış yağ asidi ( $\Sigma$ MUFA) miktarı % 38,67±1,24, toplam çoklu doymamış yağ asidi ( $\Sigma$ PUFA) miktarı %27,59±0,92, olarak belirlenmiştir. Mısır vd., (2014), her iki grup palamutta bizim bulduğumuz sonuçlardan farklı olarak toplam PUFA oranının aylık olarak toplam SFA ve MUFA'dan daha yüksek içerdiğini ve aylık PUFA değişiminin yüksek varyasyon gösterdiğini (%30,6 - 52,9) bulmuşlardır. Araştırmacılar tarafından yağ asidi kompozisyonunda meydana gelen bu değişimlerin balığın boyutuna, yaşına, doğal diyetine, üreme durumlarına, balık avının coğrafi konumuna, çevre koşullarına ve özellikle su sıcaklığına bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Saito vd., 1999; Bayır vd., 2006; Huang vd., 2012).

Bu çalışmada, taze palamut balığında EPA değeri % 6,29±0,10 (547,81 mg/100 g örnek) ve DHA değeri ise % 16,84±0,46 (1466,62 mg/100 g örnek) olarak bulunmuştur.

Bizim bulduğumuz sonuçlarla benzer bir şekilde, Mısır vd., (2014) PUFA içerisinde majör yağ asidinin DHA olduğunu ve bunu EPA'nın takip ederek sırasıyla % 12,2–28,3 and % 5,3–12,3 arasında içerdiğini bulmuşlardır. Bununla birlikte, Huang vd., (2012), Trabzon bölgesinde yakalanan *Sarda sarda*'nın PUFA içerisinde majör yağ asidi olarak DHA'nın olduğunu belirterek bizim bulduğumuz sonuçla benzer bir sonuç elde etsede, EPA ve DHA miktarını bizim bulduğumuz değerlerden daha düşük (% 8,59 ± 0,49 ile DHA ve % 0,42 EPA) saptamışlardır.

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, uzun zincirli omega-3'ün olan DHA ve EPA'nın kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı ve bebeklerin ve çocukların büyümesine ve gelişmesine faydalı olduğunu göstermiştir (Helland vd., 2003; Ramakrishnan vd., 2010). Bu çalışmada, toplam EPA+DHA miktarı kontrol grubunda 2014,43 mg/100 g örnek olarak bulunurken, depolamanın sonunda bu değer 2342,75 mg/100 g örnek olduğu belirlenmiştir. Marine palamutta ise başlangıçta

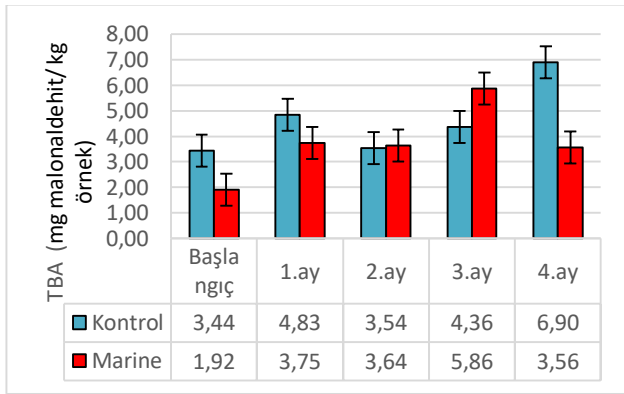
toplam EPA+DHA miktarı 2086,89 mg/100 g örnek olan değer depolamanın sonunda 2450,57 mg/100 g örnek olduğu saptanmıştır. Farklı sağlık kurumları günlük n-3 PUFA ve EPA + DHA alım miktarlarını sırasıyla 0,2 – 0,45g ve 0,5 – 1,0 g aralığında olması gerektiğini belirtmişlerdir (Göğüş & Smith, 2010). Simopoulos (2003), bir yetişkinin haftalık gereksinimi için 2000-kcal diyetinde 4550 mg EPA + DHA olması gerektiğini belirtmektedirler. Kris-Etherton vd., (2009), Dünya Perinatal Tıp Derneği, Erken Beslenme Akademisi ve Çocuk Sağlığı Vakfı tarafından (Koletzko vd., 2008) önerilen DHA miktarının, hamile ve emziren bayanlar için günlük 200 mg düzeyinde olması gerektiğini vurgulamışlardır. Lee & Hiramatsu (2011), çeşitli sağlık kuruluşları tarafından EPA + DHA'nın önerilen değerlerini, sağlıklı yetişkinler için günlük 0,5g ve koroner kalp hastalıkları olan hastalarda ise günlük 1,0g belirtmiştir. Bu değerlendirmelere göre, bu çalışmada elde edilen EPA, DHA ve EPA+DHA miktarlarının bu miktarları fazlasıyla karşıladığı görülmektedir (Tablo 1).

Huang vd., (2012), Karadenizde avlanan balıkların yağ asidi kompozisyonlarından DHA ve EPA içeriği ve omega-3 / omega-6 yağ asitleri oranı açısından karşılaştırmak ve sıralamak için 3 bileşene sahip bir puanlama sistemi geliştirmiştir: (1) DHA artı EPA'nın lipit fraksiyonu; (2) 100g taze dokuda mutlak DHA ve EPA miktarı ve (3) tüm yağ asitlerini dikkate alarak omega-3 / omega-6 oranıdır. Araştırmacı tarafından bu 3 bileşenin her birine 1 ile 3 arasında bir puan verilmiştir. Örneğin, DHA artı EPA'nın yüzdesiyle ilgili olarak, DHA artı EPA yüzdesi % 30'u aşarsa 3 puan, DHA artı EPA toplamı % 15 ila % 30 aralığında ise 2 puan, DHA artı EPA toplamı % 15'ten azsa 1 puan olarak değerlendirilmiştir. n-3 / n-6 oranı ile ilgili olarak, 5,0'dan büyükse 3 puan, 1,0-5,0 aralığında ise 2 puan ve bu oranın altındaysa 1 puan olarak değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmelere göre, bu çalışmada kontrol grubunun ve marine palamutun depolamanın başlangıcında DHA artı EPA yüzdesi % 23,13 ve % 23,43 ile 2 puan aldığı ve n-3 / n-6 oranı ile ilgili olarak kontrol grubu % 5,67 ile 3 puan marine palamut ise % 3,14 ile 2 puan aldığı bulunmuştur. Depolamanın sonunda ise, DHA artı EPA yüzdesi kontrol grubu ve marine palamutta sırasıyla % 19,25 ve % 21,61 ile 2 puan almıştır. Moreira vd., (2001) tarafından n-6 / n-3 oranının <1,0 olması gerektiği belirtilmektedir. Buna göre bu çalışmada, gerek depolamanın başlangıcında gerekse depolamanın sonunda n-6 / n-3 oranının <1,0 düşük olduğu görülmektedir (Tablo 1). Sağlıklı bir beslenme diyeti için n-3/n-6 oranı 1:1-1:5 olarak bildirilmiştir (Osman vd., 2001). Tüm bu verilere göre, bu çalışmada gerek kontrol grubunun gerekse marine palamutun bu değerleri fazlasıyla karşıladığı görülmektedir (Tablo 1).



Tablo 1’de görüldüğü gibi, dondurularak depolamada, kontrol grubunun başlangıç değerlerine göre depolamanın sonunda tekli doymamış yağ asitlerinden C18: 1n-9 ve C20: 1n-9’in ve çoklu doymamış yağ asitlerinden C18:3n-3’in önemli oranda azaldığı saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Marine palamutun ise başlangıç değerlerine göre depolamanın sonunda doymuş yağ asitlerinden C20:0 ve C24:0’in önemli oranda yükseldiği ( $p<0,05$ ), tekli doymamış yağ asitlerinden C20: 1n-9’in önemli oranda yükseldiği ( $p<0,05$ ) ve C22: 1n-9’in önemli oranda azaldığı ( $p<0,05$ ) ve çoklu doymamış yağ asitlerinden C20:2, C20:3n-6 ve C20:4n-6’ in önemli oranda arttığı bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Bu çalışmada, marine palamuttaki depolamaya bağlı yağ asitlerindeki artışın yağ asidi kompozisyonunda meydana gelen azalmalardan dolayı oransal bir artış olduğu düşünülmektedir.

**Lipid Oksidasyonu:** Dondurarak depolama boyunca, kontrol ve marine palamutta meydana gelen tiyobarbitürik asit (TBA, mg malonaldehit / kg örnek) değerleri Şekil 1’de verilmiştir.



**Şekil 1.** Dondurarak depolama (-18 °C) boyunca kontrol ve marine edilmiş palamutta meydana gelen tiyobarbitürik asit (TBA, mg malonaldehit/ kg örnek) değerlerinde meydana gelen değişim.

**Figure 1.** Changes in thiobarbituric acid (TBA, mg malonaldehyde / kg sample) values of control and marinated bonito during frozen storage (-18 °C).

Çalışmada, TBA değeri başlangıçta kontrol grubunda  $3,44 \pm 0,10$  mg malonaldehit/ kg örnek olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, Mol vd., (2012), taze palamut balıklarında TBA içeriğini  $3,04$  mg MDA/kg ile bizim bulduğumuz değere yakın bir değerde bulmuşlardır. Buna karşılık Erkan vd.,(2020), taze palamut balıklarının TBARS miktarını  $0,77$  mg MDA/ kg ile bizim bulduğumuz değerden daha düşük saptamışlardır (Rzepka vd., 2012;Yerlikaya & Gökoğlu 2010a). Bu çalışmada, diğer araştırmacılar daha yüksek olarak bulunan TBA miktarının palamut balıklarının kuru madde ve lipit içeriğindeki farklılıklardan kaynaklanacağı düşünülmektedir. Nitekim kuru madde ve yağ içeriği gözönüne alındığında Mol vd., (2012)’nin palamut balıkları için bulunan TBA değeri, kuru madde bazında

hesaplandığında daha yüksek bulunacağı görülecektir. Denemenin ilerleyen aylarında hiçbir muameleye tabi tutulmayan kontrol grubunun TBA miktarında dalgalanmalar görülse de, depolamanın sonunda  $6,90 \pm 0,42$  mg malonaldehit / kg örnek düzeyi ile başlangıç değerine göre yaklaşık %50 artış gösterdiği görülmektedir ( $p<0,05$ ).

Marine palamutların başlangıç TBA değerinin  $1,92 \pm 0,07$  mg malonaldehit/ kg örnek olduğu bulunmuştur. Her ne kadar gruplar arasındaki farkı saptamak amacıyla yapılan t testinde, kontrol grubu ile marine palamut arasında önemli bir fark tespit edilmesede, marine palamutun TBA değerinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğu Şekil 1’de görülmektedir. Marine palamudun TBA değerinin dondurularak depolamanın sonunda  $3,56 \pm 0,02$  mg malonaldehit/ kg örnek düzeyine ulaşarak başlangıç değerine göre önemli bir artış gösterdiği bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Bu çalışmada, dondurularak depolamanın sonunda yapılan t testi ile her iki grup arasındaki TBA değerinin farklı olduğu ve marine palamutların kontrol grubuna göre daha düşük düzeyde TBA içerdiği bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında, kontrol ve marine edilmiş palamutlarda görülen dondurularak depolamaya bağlı TBA düzeyindeki benzer artışlar diğer araştırmacılar tarafından da bulunmuştur (Yerlikaya & Gökoğlu, 2010a).

Balıklarda kabul edilebilir en yüksek TBA değeri  $8$  mg MDA/kg olarak önerilmiştir (Schormüller, 1968). Bu çalışmada, her iki grubunda bu değerlere ulaşmadığı fakat kontrol grubunun depolamanın 4. ayında  $6,90 \pm 0,421$  mg malonaldehit/ kg örnek ile bu değere yaklaştığı bulunurken, marine edilen grubun bu düzeyin çok altında kaldığı tespit edilmiştir. Marine palamutun kontrol grubuna göre daha düşük TBA içeriğinin nedeninin ise marinyasyon işleminde kullanılan sos malzemesi içinde bulunan soğan, sarımsak ve limon suyunun antioksidan özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Stajner vd., (2006)’nın bildirdiğine göre sarımsak ve soğanın vitaminler (Brewster & Rabinowitch, 1990), çeşitli antioksidanlar (Ide & Itakura, 1996), sülfür içeren bileşikler, amino asitler, proteinler (Block vd., 1996), lipitler ve Selenyum gibi eser elementler (Ip & Lisk, 1996), ve flavonoidler (Hollman vd., 1997) gibi antioksidan özelliği gösterecek iki yüzden fazla bileşeni olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, antioksidanların gıda maddelerine eklenmesinin, Atlantik uskumrusunda oksidasyona karşı maksimum koruma sağladığı belirtilmektedir (Albertos vd., 2018).

**Duyusal Kalite:** Dondurarak depolama boyunca kontrol grubu ve marine palamudun duyusal kalite parametrelerinde meydana gelen değişimler Tablo 2’ de gösterilmiştir.

Bu çalışmada, elde edilen duyusal parametrelerde görüldüğü üzere, marinyasyon işleminin palamudun dondurularak depolama boyunca kalitesini koruduğu

saptanmıştır. Herhangi bir muameleye tabi tutulmamış kontrol grubu 4. ayda tüketilemezlik aşamasına yaklaşmışken, marine palamutun hâlâ tüketilebilir değerlerde olduğu saptanmıştır. Auborg vd., (2005) yapmış oldukları bir çalışmada, yakalama zamanının (Kasım ve Mayıs ayları) ve farklı ticari sunumların (tüm ve fileto halinde) -20 °C de depolanan uskumruların (*Scomber scombrus*) dondurularak depolama boyunca acılaşmaya olan etkilerini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda, Kasım ayında yakalan ve fileto çıkarılarak dondurulmuş uskumrularının duyuşsal olarak raf ömrünün 1 ay, Mayıs ayında yakalanan uskumruların ise 3 ay olduğunu belirlemişlerdir. Bunun sebebinin depolama boyunca meydana gelen biyokimyasal bozulma parametrelerinden meydana geldiğini ve özellikle Kasım ayında yakalan balıkların daha yağlı olduğu için lipid oksidasyon ürünlerinin oluşmasına daha fazla yatkın olduğunu ve filetonun tüm balığa göre hava ile daha fazla temas etmesinden kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir. Yine Auborg vd., (2006) keten tohumu ekstraktına daldırılarak dondurulmuş (-20 °C) uskumru filetoalarının duyuşsal olarak 3. Ayda, kontrol grubunun ise 5. Ayda tüketilemezlik sınırına geldiğini ve yağlı balıklarının dondurularak depolamada raf ömrününün sınırlandırılmasında lipid

oksidasyonun birincil faktör olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada da kontrol grubunun 4. Ayda tüketilemez sınırına ulaşmasında, balıkların dilimlenmiş olması ve lipid içeriğinin yüksek olması nedeniyle oksidasyona daha fazla maruz kalması sonucunda oluşan lipid oksidasyon ürünlerinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kontrol grubunda elde edilen TBA değerinin 4. ayda Marine edilmiş gruptan daha yüksek olarak bulunması da bu sonucu destekler niteliktedir.

Marine edilen palamutların lezzetinin daha yüksek değerlendirilmesinin nedeninin marinyasyon işleminde kullanılan sos içeriğinin hem antioksidan özelliğinden hem de istenmeyen koku ve tat oluşumunu baskılandığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde, Yerlikaya & Gökoğlu (2010a) yaptıkları çalışmada palamut balığı filetoalarını yeşil çay, üzüm çekirdeği ve nar kabuğu ekstraktları ile muamele ederek dondurulduktan sonra -18 °C'de 5 ay depolanmıştır. Denemelerinin sonunda koku ve tekstür bakımından yeşil çay ekstraktı ile uygulanmış örneklerin duyuşsal testlerde daha bir beğeni kazandığı ve bununla birlikte balıkentinin glaze öncesi bitki ekstraktlarına daldırılması kas yapısındaki deformasyonu azalttığı sonucuna varılmıştır.

**Tablo 2.** Dondurarak depolama boyunca kontrol ve marine palamutun duyuşsal kalite parametrelerindeki değişim.

**Table 2.** Change in sensory quality parameters of control and marined bonito during frozen storage.

Aylar	Koku		Renk		Lezzet		Tekstür		Genel Kabul Edilebilirlik	
	Kontrol Grubu	Marine Palamut	Kontrol Grubu	Marine Palamut	Kontrol Grubu	Marine Palamut	Kontrol Grubu	Marine Palamut	Kontrol Grubu	Marine Palamut
Başlangıç	8,00±0,00 <sup>c</sup>	9,00±0,00 <sup>c</sup>	8,00±0,00 <sup>c</sup>	8,00±0,00 <sup>b</sup>	8,67±0,58 <sup>c</sup>	8,67±0,58 <sup>bc</sup>	8,00±0,00 <sup>c</sup>	8,00±0,00 <sup>b</sup>	8,00±0,00 <sup>d</sup>	8,00±0,00 <sup>c</sup>
1	7,00±0,00 <sup>b</sup>	8,50±0,71 <sup>c</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>	7,50±0,71 <sup>ab</sup>	7,00±0,00 <sup>bc</sup>	8,50±0,71 <sup>c</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>	8,00±0,00 <sup>b</sup>	7,00±0,00 <sup>c</sup>	8,00±0,00 <sup>c</sup>
2	5,00±0,00 <sup>a</sup>	6,67±0,29 <sup>a</sup>	6,67±0,58 <sup>a</sup>	6,33±0,29 <sup>a</sup>	7,00±0,87 <sup>b</sup>	6,50±0,87 <sup>b</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>	7,00±0,00 <sup>a</sup>	6,00±0,00 <sup>b</sup>	6,50±0,00 <sup>a</sup>
3	5,00±0,00 <sup>a</sup>	6,67±0,29 <sup>a</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>	6,50±0,50 <sup>a</sup>	6,00±0,00 <sup>b</sup>	6,33±0,58 <sup>ab</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>	6,67±0,58 <sup>a</sup>	7,00±0,00 <sup>c</sup>	6,50±0,50 <sup>a</sup>
4	4,67±0,58 <sup>ab</sup>	7,00±0,00 <sup>a</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>	7,00±0,00 <sup>a</sup>	3,00±1,00 <sup>ab</sup>	7,00±0,00 <sup>a</sup>	5,67±0,58 <sup>ab</sup>	7,00±0,00 <sup>a</sup>	4,00±0,00 <sup>ab</sup>	7,00±0,00 <sup>b</sup>

\* Aynı sütun içindeki farklı harfler ve aynı satırdaki \* işareti 0,05 önem düzeyindeki farklılıkları göstermektedir (p<0,05).

## SONUÇ

Yapılan bu araştırma sonucunda, marine edilmiş palamutun % lipit, %protein içeriği ve % ham kül içeriği kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Dondurarak depolama boyunca her iki grupta lipit oksidasyonun depolama boyunca arttığı fakat bu artışın marine palamutta daha düşük olduğu bulunmuştur. Bu sonuca göre, marinyasyon solüsyonunun lipit oksidasyonunun oluşmasını engellediği söylenebilir. Yağ asitleri kompozisyonu bakımından, dondurarak depolamada bazı yağ asitlerinde depolamaya bağlı değişim olduğu saptanmıştır. Gerek başlangıçta gerekse depolamanın sonunda her iki grubun EPA, DHA, n-3/n-6 ve n-6/n-3 oranlarını yüksek düzeyde içerdiği bulunmuştur. Depolama boyunca kontrol grubu ve marine palamutun duyuşsal kalite parametrelerinden renk, koku, lezzet, tekstür ve genel kabul edilebilirlik puanlarının önemli oranda azaldığı ve fakat depolamanın sonu olan 4. ayda kontrol grubu koku, lezzet ve genel kabul edilebilirlik

parametreleri bakımından tüketilemezlik sınırını aşarken marine palamudun tüketilemezlik aşamasına gelmediği tespit edilmiştir. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında dondurarak depolama öncesi palamut balıklarına yapılan marinyasyon işleminin depolama ömrünü uzattığı, palamut balığının lipit oksidasyonunun gelişmesine engel olduğu ve duyuşsal özellikleri geliştirdiği tespit edilmiştir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ordu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünün BY-1732 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

Albertos, I, Martín-Diana, A.B., Jaime, I., Avena-Bustillos, R.J., McHugh, T.H., Takeoka, G., Dao, L. & Rico, D. (2018). Antioxidant effect of olive leaf powder on fresh Atlantic horse

- mackerel (*Trachurus trachurus*) minced muscle. *Journal of Food Processing Preservation*, **42**(1), 13397. DOI: [10.1111/jfpp.13397](https://doi.org/10.1111/jfpp.13397).
- Anonim. (2019).** T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Su Ürünleri İstatistikleri, Mart 2019.
- AOAC. (1990).** Official Methods of Analysis of the AOAC, 15th ed. *Association of Official Analytical Chemists*, Arlington, VA, USA.
- AOAC. (1995).** Method AOAC 981.10, Official methods of analysis of AOAC international, 16th ed. *AOAC International*, Gaithersburg, MD, USA.
- Aubourg, S.P., Rodríguez, A. & Gallardo, J.M. (2005).** Rancidity development during frozen storage of mackerel (*Scomber scombrus*): effect of catching season and commercial presentation. *European Journal of Lipid Science and Technology*, **107**(5), 316-323.
- Aubourg, S.P., Stodolnik, L., Stawicka, A. & Szczepanik, G. (2006).** Effect of a flax seed (*Linum usitatissimum*) soaking treatment on the frozen storage stability of mackerel (*Scomber scombrus*) fillets. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **86**(15), 2638-2644.
- Bayır, A., Haliloglu, H.I., Sirkecioğlu, A.N. & Aras, N.M. (2006).** Fatty acid composition in some selected marine fish species living in Turkish waters. *Journal of the Science of and Food Agriculture*, **86**, 163-168.
- Bligh E.G. & Dyer, W.J. (1959).** A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, **37**(1), 911-917.
- Block, E., Gillies, J.Z., Gillies, C.W., Bazzi, A.A., Putman, D., Revelle, L. K., ... & Zhang, X. (1996).** Allium chemistry: microwave spectroscopic identification, mechanism of formation, synthesis, and reactions of (E, Z)-propanethial S-oxide, the lachrymatory factor of the onion (*Allium cepa*). *Journal of the American Chemical Society*, **118**(32), 7492-7501.
- Björkroth, J. (2005).** Microbiological ecology of marinated meat products, *Meat Science*, **70**, 477-480. Brandt, L.A. (2001). *Marinades Meat challenges. Prepared Foods*, **6**, 28-32.
- Brewster, J.I. & Rabinowitch, H.D. (1990).** Garlic agronomy. *Onions and Allied Crops. Vol. III. Biochemistry, Food Science, and Minor Crops*.
- Huang, L.-T., Bülbül, U., Wen, P.-C., Glew, R.H. & Ayaz, F.A. (2012).** Fatty acid composition of 12 fish species from the black sea. *Journal of Food Science*, **77**(5), 512-518.
- Collette, B.B., & Nauen, C.E. (1983).** FAO species catalogue vol. 2. Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos and related species known to date. *FAO Fisheries Synopsis*, **2**, 53-54.
- Çorapçı, B. (2018).** Ön işlemsiz donmuş depolanan (-22±1°C) hamsi (*Engraulis encrasicolus*, Linnaeus 1758) ve palamut (*Sarda sarda*, Bloch 1793) balıklarının duyuşal, besinsel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *GIDA*, **43**(6), 1075-1090.
- Duncan, D.B. (1955).** Multiple range and multiple F tests. *Biometrics*, **11**, 1-42.
- Duyar, H.A., Erdem, M.E., Samsun, S. & Kalayci, F. (2008).** The Effects of the Different Woods on Hot-Smoking Vacuum Packed Atlantic Bonito (*Sarda sarda*) Stored at 4°C. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **7**(9):1117-1122.
- Duyar, H.A. & Eke, E. (2009).** Production and quality determination of marinade from different fish species. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, **8**(2), 270-275.
- Duyar, H.A., Özdemir, S. & Bayraklı, B. (2020).** The Determination of Proximate Composition and Some Biologic Characteristics of Flatfish (*Pegusa lascaris*) captured in the Black Sea Coasts. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(4), 717-724. DOI: [10.35229/jaes.823936](https://doi.org/10.35229/jaes.823936)
- Dyer, W.J., Fench, H.V. & Snow, J.M. (1950).** Proteins in fish muscle. 1. Extraction of protein fraction in fresh fish. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, **7**(10), 585-589.
- Ergezer, H. & Gökçe, R. (2004).** Kanatli Eterinin Marinasyon Tekniğı İle İşlenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **10**(2), 227-233.
- Erkan, N., Can Tuncelli, I. & Ozden, O. (2020).** Effects of salt/sugar brine storage solutions on shelf life of the salted atlantic bonito. *Aquatic Sciences and Engineering*, **35**(4), 119-26.
- Göğüş, U. & Smith, C. (2010).** n-3 Omega fatty acids: a review of current knowledge. *International Journal of Food Science and Technology*, **45**, 417-436.
- Harris, W.S. (2007).** Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease: A case for omega-3 index as a new risk factor. *Pharmacological Research*, **55**, 217-223.
- Helland, I.B., Smith, L., Saarem, K., Saugstad, O.D. & Drevon, C.A. (2003).** Maternal supplementation with very-long-chain n-3 fatty acids during pregnancy and lactation augments children's IQ at 4 years of age. *Pediatrics*, **111**(1), 39-44.

- Hollman, P.C., Van Trijp, J.M., Buysman, M.N., vd Gaag, M.S., Mengelers, M.J., De Vries, J.H. & Katan, M.B. (1997).** Relative bioavailability of the antioxidant flavonoid quercetin from various foods in man. *FEBS letters*, **418**(1-2), 152-156.
- Husein, Y., Secci, G., Mancini, S., Zanoni, B. & Parisi, G. (2020).** Nutritional quality, physical properties and lipid stability of ready-to-cook fish products are preserved during frozen storage and oven-cooking. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **29**(2), 207-217.
- Ichihara, K., Shibahara, A., Yamamoto, K. & Nakayama, T. (1996).** An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, **31**(5), 535-539.
- Ip, C. & Lisk, D.J. (1996).** The attributes of selenium-enriched garlic in cancer prevention. In *Dietary Phytochemicals in Cancer Prevention and Treatment* (pp. 179-187). Springer, Boston, MA.
- Karakoltsidis, P.A., Zotos, A. & Constantinides, S.M. (1995).** Composition of the commercially important Mediterranean fin fish, crustaceans, and molluscs. *Journal of Food Composition and Analysis*, **8**, 258-273.
- Koletzko, B., Lien, E., Agostoni, C., Böhles, H., Campoy, C., Cetin, I., Decsi, T., Dudenhausen, J.W. & Dupont, C. (2008).** The roles of long-chain polyunsaturated fatty acids in pregnancy, lactation and infancy: Review of current knowledge and consensus recommendations. *Journal of Perinatal Medicine*, **36**, 5-14.
- Koral, S. & Köse, S. (2018).** The effect of using frozen raw material and different salt ratios on the quality changes of dry salted Atlantic bonito (lakerda) at two storage conditions. *Food and Health*, **4**(4), 213-230.
- Kris-Etherton P.M., Harris W.S. & Appel L.J. (2003).** Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. *Circulation*, **106**, 2747-2757.
- Lee, A.H. & Hiramatsu, N. (2011).** Role of n-3 series polyunsaturated fatty acids in cardiovascular disease prevention. *Nutrition and Dietary Supplements*, **3**, 93-100.
- Lemos, A.L.S.C., Nunes, D.R.M. & Viana, A.G. (1999).** Optimization of the still-marinating process of chicken parts. *Meat Science*, **52**, 227-234.
- McEvoy, J.H. (2003).** The might of marinades. *Prepared Foods*, **172**, 49-58.
- Mısır, G.B., Tufan, B. & Köse, S. (2014).** Monthly variation of total lipid and fatty acid contents of Atlantic bonito, *Sarda sarda* (Bloch, 1793) of Black Sea. *International Journal of Food Science and Technology*, **49**(12), 2668-2667.
- Mol, S., Özturan, S. & Coşansu, S. (2012).** Determination of the quality and shelf life of sous vide packaged bonito (*Sarda sarda*, Bloch, 1793) stored at 4 and 12 °C. *Journal of Food Quality*, **35**(2), 137-143.
- Moreira, A.B., Visentanier, J.V., de Souza N.E., & Matsushita, M. (2001).** Fatty acid profile and cholesterol contents of three brazilian brycon freshwater fishes. *Journal of Food Composition and Analysis*, **14**(6), 565-574.
- Osman, H., Suriah, A.R., & Law, E.C., (2001).** Fatty acid composition and cholesterol content of selected marine fish in Malaysian waters. *Food Chemistry*, **73**, 55-60
- Parks, S.S., Reynolds, A.E. & Wicker, L. (2000).** Aqueous apple flavoring in breast muscle has physical, chemical and sensory properties similar to those of phosphate marinated controls. *Poultry Science*, **79**, 1183-1188.
- Paulus, K., Zacharias, R., Robinson, L. & Geidel, H. (1979).** Kritische betrachtungen zur bewetenden prufung mit skale'' als einem wesentlichen verfahren der sensorichen analyse. *LWT Food Science and Technology*, **12**, 52-61.
- Pedrosa, R., Tecelão, C. & Gil, M.M. (2014).** Lipids in meat and seafood: *Methods in Food Analysis*, Ed.: Cruz, R.M.S, Khmelinskii, I., Vieira, M.C., CRC Press, Taylor & Francis Group, USA, 142-191.
- Ramakrishnan, U., Stein, A.D., Parra-Cabrera, S., Wang, M., Imhoff-Kunsch, B., Juarez-Marquez, S., Rivera, J. & Martorell, R. (2010).** Effects of docosahexaenoic acid supplementation during pregnancy on gestational age and size at birth: randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Mexico. *Food and Nutrition Bulletin*, **31**(2), 108-116.
- Rzepka, M., Özoğul, F., Surówka, K. & Michalczyk, M. (2013).** Freshness and quality attributes of cold stored Atlantic bonito (*Sarda sarda*) gravid. *International Journal of Food Science and Technology*, **48**(6), 1318-1326.
- Saito, H., Yamashiro, R., Alasalvar, C. & Konno, T. (1999).** Influence of diet on fatty acids of three subtropical fish, subfamily *Caesioninae* (*Caesio diagramma* and *C. tile*) and family *Siganidae* (*Siganus canaliculatus*). *Lipids*, **34**, 1073-1082.
- Schormüller, J. (1968).** Handbuch der Lebensmittelchemie. Band III/2: *Handbuch der Lebensmittelchemie*, Ed.: Acker, L., Bergner, K. - G., Diemair, W., Heimann, W., Kiermeier, F., Schormüller, J., Souci, S. W., Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1482-1537.

- Shylaja, M.R. & Peter, K.V. (2004).** The functional role of herbal spices, in *Handbook of Herbs and Spices*, Ed. Peter, K. V. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Sikorski, Z.E. (1980).** Technologia żywności pochodzenia morskiego. Whydawnictwa, Naukowo-Techniczne, Warszawa, Poland, 567pp.
- Sikorski, Z.E. (1994).** Seafood Proteins. Chapman & Hall, New York, 244pp.
- Simopoulos, A.P. (2003).** Omega-3 fatty acids and cancer. *Indoor and Built Environment*, **12**(6), 405-412.
- Smith, D.P. & Acton, J.C. (2001).** Marination, cooking and curing of poultry products, Chapter 15: *Poultry Meat Processing*, Ed.: Sams, A. R., CRC Pres, Boca Raton F. L., 257-279.
- Stajner, D., Milic, N., Canadanovic-Brunet, J., Kapor, A., Stajner, M. & Popovic, B.M. (2006).** Exploring Allium species as a source of potential medicinal agents. *Wiley InterScience*, **20**, 581-584.
- Tan, F.J. (2002).** Microbiological, physical and sensory characteristics of marinated chicken drumsticks treated with nisin, thermal treatment, tumbling and the lactoperoxidase system, dissertation. The Ohio State University, 261p.
- Tanakol, R., Yazıcı, Z., Şener, E. & Sencer, E. (1999).** Fatty acid composition of 19 species of fish from the Black Sea and the Marmara Sea. *Lipids*, **34**, 291-297.
- Tarladgis B., Watts, B.M. & Yonathan, M. (1960).** Distillation method for determination of malonaldehyde in rancid food. *Journal of American Oil Chemistry Society*, **37**(1), 44-48.
- Weihrauch, J.L., Posati, L.P., Anderson, B.A. & Exler, J. (1975).** Lipid conversion factors for calculating fatty acid contents of foods. *Journal of American Chemical Society*, **54**, 36-40.
- Xargayo, M., Lagares, J., Fernandez, E., Ruiz, D. & Borell, D. (2001).** Marination of fresh meats by means of spray effect: Influence of spray injection on the quality of marinated products. *Fleischwirtschaft International*, **81**(2), 93-98.
- Vareltzis, K., Koufidis, D., Gavriilidou, E., Papavergou, E. & Vasiliadou, S. (1997).** Effectiveness of a natural Rosemary (*Rosmarinus officinalis*) extract on the stability of filleted and minced fish during frozen storage. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, **205**(2), 93-96.
- Yerlikaya, P. & Gökoğlu, N. (2010a).** Effect of previous plant extract treatment on sensory and physical properties of frozen bonito (*Sarda sarda*) fillets. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **10**, 341-349.
- Yerlikaya, P. & Gökoğlu, N. (2010b).** Inhibition effects of green tea and grape seed extracts on lipid oxidation in bonito fillets during frozen storage. *International Journal of Food Science and Technology*, **45**, 252-257.
- Yoshida, H.O. (1980).** Synopsis of biological data on bonitos of the genus *Sarda*. NOAA Tech. Rep. NMFS Circ. 432. *FAO Fisheries Synopsis*, **118**, 1-50.
- Zaboukas, N., Miliou, H., Megalofonou, P. & Moraitou-Apostolopoulou, M. (2006).** Biochemical composition of the Atlantic bonito (*Sarda sarda*) from the Aegean Sea (Eastern Mediterranean Sea) in different stages of sexual maturity. *Journal of Fish Biology*, **69**, 347-362.



## Presence of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793) in the Black Sea

Mehmet AYDIN\* Mustafa GÜL  
Ordu University, Fatsa Faculty of Marine Science, Ordu 52400, Turkey.

Received: 25 September 2020

Accepted: 22 January 2021

Published: 31 March 2021

How to cite: Aydın, M. & Gül, M. (2021). Presence of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793) in the Black Sea. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 14-17.

Atf yapmak için: Aydın, M. & Gül, M. (2021). Pasifik istiridyasının (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793) Karadeniz'de varlığı. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 14-17.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0003-1163-6461>  
ID: <https://orcid.org/0000-0002-2864-273X>

\*Corresponding author's:  
Mehmet AYDIN  
Ordu University, Fatsa Faculty of Marine  
Science, Ordu 52400, Turkey.  
✉: [maydin69@hotmail.com](mailto:maydin69@hotmail.com)

**Abstract:** Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), as an alien species to Black Sea ecosystem, is a highly commercial species with the highest production rate in aquaculture in the world. This species has been raised on the Crimean and Romanian Coasts since 1980s with reports of potentially breeding wild populations in those regions. However, the presence of this species on the Turkish coast of Black Sea is literally unknown. Therefore, here we investigated the occurrence and population density of the wild colonies of Pacific oyster on Ordu Coasts. We found that *C. gigas* has created breeding populations on the Turkish coasts with becoming the dominant species on some hard substrate including rocky bottoms and large rocks that were used for the fulfilment of the coastal regions to gain more land. Further, the population density was 94.58 ind./m<sup>2</sup> with an average shell length of 3.33 ± 0.724 cm. Our results here showed that *C. gigas* has adapted to the Turkish coasts of Black Sea with creating breeding populations, therefore a management plan should be applied in order to reduce the potential influence of this species on the natural communities.

**Keywords:** Black sea, invasive, pacific oyster, *Crassostrea gigas*.

## Pasifik istiridyasının (*Crassostrea gigas* Thunberg, 1793) Karadeniz'de varlığı

**Öz:** Pasifik istiridyesi (*Crassostrea gigas*) yüksek ekonomik değeri olan ve dünyada en çok üretimi yapılan türdür. Kırım ve Romanya kıyılarında 1980'li yıllarda kültür çalışmaları yapılmış ve bölgede doğal stokların ürettiği rapor edilmiştir. Ancak, türün Karadeniz'in Türkiye kıyılarında varlığı bilinmemektedir. Bu çalışmada pasifik istiridyasının Ordu sahillerinde varlığı, popülasyon yoğunluğu ve boyutları araştırılmıştır. *C. gigas* türünün Türkiye sahillerinde üreyip popülasyon oluşturduğu, sert zeminlerde, doğal kayalık bölgelerde ve dolgu alanlarında dominant tür haline geldiği belirlenmiştir. Ayrıca popülasyon yoğunluğu 94,58 birey/m<sup>2</sup> olarak, ortalama kabuk boyu ise 3,33 ± 0,724 cm olarak hesaplanmıştır. Sonuç olarak, pasifik istiridyasının Karadeniz'in Türkiye sahillerine adapte olduğu ve doğal bir popülasyon oluşturduğu söylemek mümkündür. Ayrıca türün bölgedeki doğal stoklara etkisinin araştırılması için bir yönetim planının hazırlanması gerektiği düşünülmektedir.

\*Sorumlu yazar:  
Mehmet AYDIN  
Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri  
Fakültesi, Ordu 52400, Türkiye.  
✉: [maydin69@hotmail.com](mailto:maydin69@hotmail.com)

**Anahtar kelimeler:** Karadeniz, istilacı, pasifik istiridyesi, *Crassostrea gigas*.

## INTRODUCTION

The Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) is a highly commercial Bivalvia species (Wolff & Reise 2002; Batista et al., 2008). It is native to Japanese coast of Pacific Ocean; however, it is the most common

aquaculture species in the world with high ability of adaptations to various environmental conditions (Shatkin et al., 1997; Ruesink et al., 2005). Pacific oyster has been introduced to more than seventy countries and has established breeding populations in seventeen of these (Ruesink et al., 2005). Aquaculture productions of this

species started in 1920s in the USA and in 1966 in France. Further, Italy has the highest production and consumption rates of this species in Europe (FAO, 2018). Besides its high rate of production in aquaculture in different countries, it has been introduced to the new aquatic areas via unintentionally ships and intentionally shellfish farming. Both larvae and eggs in the ballast waters and the adults attached to the bottom of the ships have been unintentionally distributed globally (Schmidt et al., 2008; Keller et al., 2011; Pecarevic et al., 2013).

*C. gigas* was first introduced to the Black Sea in 1980 for aquacultural purposes on the Crimean coast (Zolotarev, 1996). Following to this first introduction, the species was reported in the natural areas in 1995 (Micu, 2004). The species was cultured between 2001- 2003 on the Romanian coasts (Zaharia & Crivăţ, 2017). Pacific oyster has been reported in the natural areas out of the aquacultural areas in the Black Sea (Skolka & Gomoiu, 2004) with rapid adaptations to the environmental conditions on the coast of Romania (Krapal et al., 2019). Additionally, Pacific oyster has been reported in the Sea of Marmara, Aegean and Mediterranean Seas (Acarli et al., 2017; Gökçek et al., 2020). However, bio-ecological characteristics including occurrence, distribution and reproduction etc. of Pacific oyster on the Turkish coast of Black Sea are still unknown. Therefore, occurrence, density and size-age distribution of the wild colonies of this species have been investigated. Additionally, the potential relationships of Pacific oyster with other native and none native species in the Black Sea were discussed.

## MATERIAL AND METHOD

This study was conducted on the Ordu Coast of Southern Black Sea in July 2020 (41°06'57.79"N 37°20'51.26"E - 41°02'02.42"N 37°30'08.88"E) (Figure 1).



Figure 1. Sampled area.

We investigated the occurrence and density of Pacific oyster at 5 sites via a total of 15 times SCUBA

diving on 2 consecutive days. At each site, we sampled 4800 cm<sup>2</sup> of benthic habitat in three quadrats (40x40 cm) from 0m to 3m at depth. We also photographed each quadrat for further investigations (Figure 2)

For species identification, we collected a few individuals from each quadrat and moved to the laboratory in which species identification was made using morphological characteristics (Lucas, 1982; NOBANIS, 2020; Poppe & Goto, 2000). Following this, we determined the size distributions of the individuals observed in quadrats using ImageJ (with 64-bit Java 1.8.0\_152) (Schneider et al., 2012). Since the length and the width of the individuals vary independently between individuals, we used body surface area as size variation of the oysters (length X width).

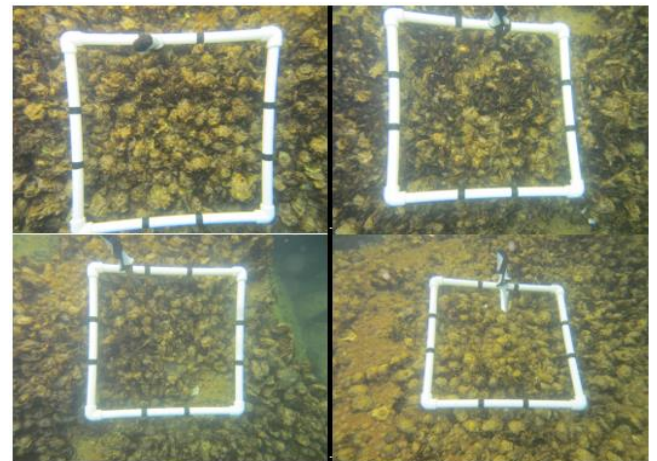


Figure 2. Quadrat sampled of different 4 site in Ordu (southern Black Sea).

## RESULTS

We determined that Pacific oyster was the dominant species both on the large rocks used for land fulfilment and on the natural substrate on the coast (Figure 3).

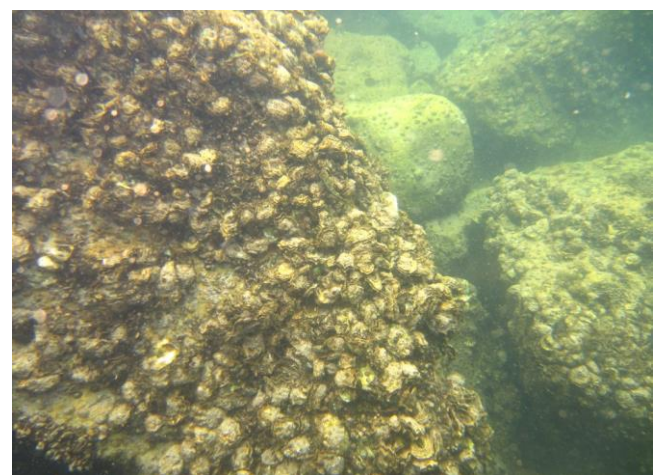
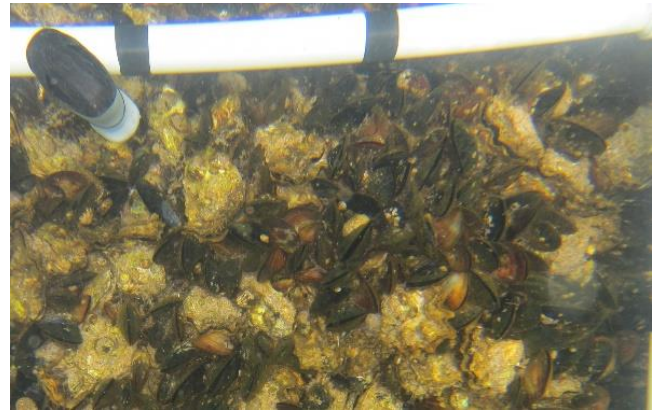


Figure 3. *Crassostrea gigas* habitat from the Black Sea littoral Turkey.

We further observed that Pacific oyster share the same environment with other species on the Turkish coast of Black Sea. Specifically, Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and Pacific oyster were mostly found in the same quadrat (Figure 4). Additionally, Patella species and rapa whelk (*Rapana venosa*) were evident in a few quadrats.

We examined a total of 227 oysters and the average length was found to be  $3.33 \pm 0.724$  cm (Min: 0.967 cm-Max: 6.538 cm) (Table 1).

We further observed that some shells were just opened and the meat of the oysters were removed, suggesting that Eurasian otter was feeding on this species in the region.



**Figure 4.** Mediterranean mussel and pacific oyster on the same habitat.

**Table1.** *Crassostrea gigas* density and morphometry in the Fatsa Region.

	Locality 1	Locality 2	Locality 3	Locality 4	Locality 5
Scanned Area (cm <sup>2</sup> )	4800	4800	4800	4800	4800
Density (individual)	53	66	35	33	40
Mean Length (cm)	$3.56 \pm 0.794$	$3.40 \pm 1.083$	$3.03 \pm 1.062$	$3.51 \pm 1.022$	$3.00 \pm 0.752$
Mean Width (cm)	$2.51 \pm 0.663$	$2.75 \pm 0.982$	$1.95 \pm 0.656$	$2.58 \pm 0.653$	$2.12 \pm 0.543$
Surface area of shell (cm <sup>2</sup> )	$9.19 \pm 4.144$	$9.26 \pm 4.276$	$6.42 \pm 4.594$	$9.48 \pm 4.663$	$6.61 \pm 3.203$

## DISCUSSION

During SCUBA diving operations with scientific and recreational purposes, a rapid increase in the abundance of Pacific oyster has been observed (Dr. Aydın, personal observation), suggesting the results from the potential arrival of the larvae and/or eggs in the ballast water and/or adults attached to the bottom of the ships. Further, Pacific oyster is the dominant species in the habitats that has been observed. Similarly, wild populations of Pacific oyster on the Romanian coasts of the Black Sea have been reported (Krapal et al., 2019).

Different studies investigated the size-age relationship of Pacific oyster in different regions in the world. The average size (e.g. shell length) for each age class found to be as 46 mm for the 1<sup>st</sup> year, 72.1mm for the 2<sup>nd</sup> year, and 91.6 mm for the 3<sup>rd</sup> year (Diederich, 2006; Cardoso et al., 2007; Christensen & Elmedal, 2007; Wang et al., 2007; Walles et al., 2015). Considering the average shell length for the given age classes of the oysters found in those studies, the population on the Ordu Coast comprises mostly young individuals with an average shell length of 3.3 cm. However, this inference should cautiously be accepted, since the growth may differ across habitats and regions.

*C. gigas* has the highest production rate among the aquaculture species due to its rapid and high capacity of adaptation and high reproduction abilities (Shatkin et al., 1997; Ruesink et al., 2005). The species reproduces at 18 °C (Enríquez-Díaz et al., 2009). The average water temperatures in the Black Sea reach these temperature

values around in June, suggesting that reproduction starts in June in this region (MGM, 2020).

In this study, the wild colony of Pacific oyster in the southern Black Sea has been detected. In addition, this study indicates Pacific oyster is well adapted to the ecosystem of the southern Black Sea and suggests that they formed a stock in the southern Black Sea.

## REFERENCES

- Acarli, S., Vural, P. & Gündüz, F. (2017). Meat yield and condition index of invasive species Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg 1793) in Bandırma Bay (Marmara Sea, Turkey). *International İskenderun Bay Symposium. 11-13 October 2017*. İskenderun, Turkey. 120 pp.
- Batista, F.M., Ben-Hamadou, R., Fonseca, V.G., Taris, N., Ruano, F., Reis-Henriques, M.A. & Boudry, P. (2008). Comparative study of shell shape and muscle scar pigmentation in the closely related cupped oysters *Crassostrea angulata*, *C. gigas* and their reciprocal hybrids. *Aquatic Living Resources*, *21*, 31-38. DOI: 10.1051/alr:2008019
- Cardoso, J.F.M.F., Langlet, D., Loff, J.F., Martins, A.R., Witte, J.I.J., Santos, P.T. & van der Veer, H.W. (2007). Spatial variability in growth and reproduction of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) along the west European coast. *Journal of Sea Research*, *57*, 303-315.
- Christensen, H.T. & Elmedal, I. (2007). *Den invasive stillehavsøsters, Crassostrea gigas. I Limfjorden. inddragelse af borgere og interessenter i forslag til en forvaltningsplan*. p. 154. Limfjorden. ConchBooks. Hackenheim. 221 pp.



- Diederich, S. (2006).** High survival and growth rates of introduced Pacific oysters may cause restrictions on habitat use by native mussels in the Wadden Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, **328**, 211-227.
- Enriquez-Díaz, M., Pouvreau, S., Chávez-Villalba, J. & Le Pennec, M. (2009).** Gametogenesis, reproductive investment, and spawning behavior of the Pacific giant oyster *Crassostrea gigas*: evidence of an environment-dependent strategy. *Aquaculture International*, **17**(5), 491.
- FAO. (2018).** *The state of world fisheries and aquaculture 2018*. Meeting the sustainable development goals. Rome.
- Gökçek, E.Ö., Acarli, S., Karahan, B., Vural, P. & Baştanlar, E.K. (2020).** First molecular record of the alien species Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg 1793) in the Marmara Sea. Turkey. *Marine Science and Technology Bulletin*, **9**, 23-31. DOI: [10.33714/masteb.668529](https://doi.org/10.33714/masteb.668529)
- Keller, R.P., Drake, J.M., Drew, M.B. & Lodge, D.M. (2011).** Linking environmental conditions and ship movements to estimate invasive species transport across the global shipping network. *Diversity and Distributions*, **17**, 93-102.
- Krapal, A.M., Ioniță, M., Caplan, M. & Buhaciuc-Ioniță, E. (2019).** Wild Pacific oyster *Magallana gigas* (Thunberg, 1793) populations in Romanian Black Sea waters—friend or foe? *Travaux du Muséum National d'Histoire Naturelle "Grigore Antipa"*, **62**, 175-183. DOI: [10.3897/travaux.62.e49074](https://doi.org/10.3897/travaux.62.e49074)
- Lucas, M. (1982).** The genus *Crassostrea* in Europe. *La Conchiglia* **14**, 18-19.
- MGM. (2020).** Distribution of sea water temperatures in the Black Sea. Reports of the Ministry of Agriculture and Forestry General Directorate of Meteorology. <https://www.mgm.gov.tr/>.
- Micu, D. (2004).** Annotated checklist of the marine Mollusca from the Romanian Black Sea. *International Workshop on the Black Sea Benthos. 18-23 April 2004*. Istanbul. Turkey. pp. 89-152.
- NOBANIS. (2020).** Fact sheet *Crassostrea gigas*. Available from <http://www.NOBANIS.org>. Data of Access, 20/07/2020.
- Pecarevic, M., Mikus, J., Bratos, Cetinic, A., Dulcic, J. & Calic, M. (2013).** Introduced marine species in Croatian waters (Eastern Adriatic Sea). *Mediterranean Marine Science*, **14**(1), 224-237. DOI: [10.12681/mms.383](https://doi.org/10.12681/mms.383)
- Poppe, G. & Goto, Y. (2000).** *European Seashells Vol. II (Scaphopoda. Bivalvia. Cefalopoda)*. Press Constanța. 185 pp. [in Romanian].
- Ruesink, J.L., Lenihan, H.S., Trimble, A.C., Heiman, K.W., Micheli, F., Byers, J.E. & Kay, M.C. (2005)** Introduction of non-native oysters: Ecosystem effects and restoration implications. Annual Review of Ecology. *Evolution and Systematics*, **36**, 643-689.
- Schmidt, A., Wehrmann, A. & Dittmann, S. (2008).** Population dynamics of the invasive Pacific oyster *Crassostrea gigas* during the early stages of an outbreak in the Wadden Sea (Germany). *Helgoland Marine Research*, **62**(4), 367-376. DOI: [10.1007/s10152-008-0125-8](https://doi.org/10.1007/s10152-008-0125-8)
- Schneider, C.A., Rasband, W.S. & Eliceire, K.W. (2012).** NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, **9**, 671-675.
- Shatkin, G., Shumway, S.E. & Hawes, R. (1997).** Considerations regarding the possible introduction of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) to the Gulf of Maine: a review of global experience. *Journal of Shellfish Research*, **16**(2), 463-477.
- Skolka, M. & Gomoiu, M.T. (2004).** *Specii invazive în Marea Neagră. Impactul ecologic al pătrunderii de noi specii în ecosistemele acvatice*. Ovidius University Press Constanța. 180p.
- Walles, B., Mann, R., Ysebaert, T., Troost, K., Herman, P.M.J. & Smaal, A.C. (2015).** Demography of the ecosystem engineer *Crassostrea gigas* related to vertical reef accretion and reef persistence. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **54**, 224-233. DOI: [10.1016/j.ecss.2015.01.006](https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.01.006)
- Wang, J., Christoffersen, K., Buck, S., Tao, Y. & Hansen, B.W. (2007).** The Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) in the Isefjord. Denmark, Roskilde University, Department of Environmental, Social and Spatial Change. Roskilde. p. 49.
- Wolff, W.J. & Reise, K. (2002).** Oyster imports as a vector for the introduction of alien species into northern and western European coastal waters. In *Invasive aquatic species of Europe. Distribution impacts and management* (pp. 193-205). Springer, Dordrecht.
- Zaharia, T. & Crivăț, M. (2017).** Creșterea dirijată a stridiei japoneze (*Crassostrea gigas*) la litoralul românesc [Directed growth of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) in the Romanian littoral zone]. In: Zaharia, T., Niță, V.N. & Nenciu, M.I. (Eds) *Bazele acvaculturii marine în România [The basics of marine aquaculture in Romania]*. CD PRESS. București. 28-49. [in Romanian].
- Zolotarev, V. (1996).** The Black Sea ecosystem changes related to the introduction of new mollusc species. *Marine Ecology*, **17**, 227-236.



## Korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Genotiplerine Ait Tohumların Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi

Zeynep DUMANOĞLU<sup>1\*</sup> Erdal ÇAÇAN<sup>2</sup> Kağan KÖKTEN<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyosistem Mühendisliği Bölümü, 12000, Bingöl, Türkiye

<sup>2</sup> Bingöl Üniversitesi Gıda, Tarım ve Hayvancılık Meslek Yüksekokulu Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, 12000, Bingöl, Türkiye

<sup>3</sup>Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü, 12000, Bingöl, Türkiye

Geliş Tarihi: 30 Eylül 2020

Kabul Tarihi: 11 Ocak 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Dumanoglu, Z., Caçan, E. & Kökten, K. (2021). Korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Genotiplerine Ait Tohumların Fiziksel Özelliklerinin Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 18-24.

How to cite: Dumanoglu, Z., Caçan, E. & Kökten, K. (2021). Determination of Physical Properties Seeds of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Genotypes. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 18-24.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0002-7889-9015>  
ID: <https://orcid.org/0000-0002-9469-2495>  
ID: <https://orcid.org/0000-0001-5403-5629>

**\*Sorumlu yazarın:**

Zeynep DUMANOĞLU  
Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi  
Biyosistem Mühendisliği Bölümü, 12000,  
Bingöl, Türkiye.  
✉: [zdumanoglu@bingol.edu.tr](mailto:zdumanoglu@bingol.edu.tr)

**Öz:** Anadolu'da milattan önceki zamanlardan günümüze kadar tarımı yapılan korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.) çok yıllık bir baklagil yem bitkisidir. Zengin ve besleyici içeriği sebebiyle hayvan beslenmesinde tercih edilmesinin yanında pek çok alanda da yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, popülasyon (Adaklı, Doğanca, Genç, Yedisu) ve çeşit adayı (Fatih, M. Ali Bey, Yunus) özelliğine sahip toplam yedi farklı korunga genotipi incelenmiştir. 2019-2020 yıllarında Bingöl Üniversitesi ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültelerine ait laboratuvarlarında gerçekleştirilen çalışmada, bu genotiplere ait tohumların bazı fiziksel özellikleri (şekil-boyut, yüzey alan, ortalama aritmetik çap-geometrik çap, küresellik, bin dane ağırlığı) belirlenmiştir. Elde edilen bu verilerin mekanizasyon açısından ürün kayıpları olmaksızın tohumların ekim olanaklarının artırılmasına ve genetik açıdan yapılacak ıslah çalışmalarına katkı sağlayacağı ön görülmektedir. İstatistiki olarak da incelenen sonuçlara göre, korunga genotiplerinin; orta boyutlarda ve oval bir şekle sahip olduğu; ortalama 2,736 mm aritmetik çapa, 8,311 mm geometrik çap ile 2,516 küresellik değerine ve 22,315 g bin dane ağırlığına sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca, incelenen bu özellikler açısından çeşit adayı genotiplerinin üstün özellikler gösterdiği; yerel genotiplerden ise sadece Yedisu genotipinin daha iyi değerlere sahip olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Korunga, *Onobrychis viciifolia* Scop., tohum boyutları, küresellik, bin dane ağırlığı.

## Determination of Physical Properties Seeds of Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) Genotypes

**Abstract:** Sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) is a perennial legume forage crop which has been cultivated in Anatolia from pre-Christ times to today. It is preferred in animal nutrition as well as in many areas because of its rich and nutritious content. In this study, seven different sainfoin genotypes with population (Adaklı, Doğanca, Genç, Yedisu) and cultivar candidates (Fatih, M. Ali Bey, Yunus) were examined. In the study carried out in 2019-2020 laboratories of Bingöl University and Ege University Faculty of Agriculture, some physical properties (shape-size, surface area, mean arithmetic diameter-geometric diameter, sphericity, thousand grain weight) of the seeds of these genotypes were determined. It is anticipated that these data will contribute to increasing the sowing possibilities of seeds without any product losses in terms of mechanization and genetic improvement studies. According to the statistically analyzed results, sainfoin genotypes; medium-sized and oval shape; It has been determined that they have an average of 2.736 mm arithmetic diameter, 8.311 mm geometric diameter and 2.516 spherical value and 22.315 g thousand grain weight. In addition, it was determined that the candidate genotypes show superior characteristics in terms of these characteristics, while only the Yedisu genotype has better values than the local genotypes.

**\*Corresponding author's:**

Zeynep DUMANOĞLU  
Bingöl University, Faculty of Agriculture and  
Biosystems Engineering Department, 12000,  
Bingöl, Turkey.  
✉: [zdumanoglu@bingol.edu.tr](mailto:zdumanoglu@bingol.edu.tr)

**Keywords:** *Onobrychis viciifolia* Scop., sainfoin, seed characteristics, sphericity, thousand grain weight.

## GİRİŞ

*Fabaceae* (Baklagiller) familyasının *Papilionidae* alt familyasında yer alan, *Onobrychis* cinsi içerisinde 80-100 civarında tür bulunmaktadır (Sütçü, 2020). Bunlar arasında tarımı en çok yapılan korunga türü *Onobrychis viciifolia*'dır. Korunga, eski çağlardan günümüze değin tarımı yapılan bir bitkidir. Güney Orta Asya'ya özgü bir yapısı olan korunganın, 15 yy. başlarından itibaren Güney Fransa ile birlikte Orta Avrupa'ya yayıldığı belirlenmiştir (Burton & Curley, 1968; Gençkan, 1983; Carbonero, 2011). Ülkemizin de içerisinde yer aldığı Yakın Doğu florasında yaygın olan korunganın (Çeçen vd., 2015; Tepe, 2019) yaklaşık 70 türünün ülkemizde doğal olarak yetiştiği yapılan araştırmalarla belirlenmiştir (İnce, 2007; Avcı, 2010). Bölgelere göre "görügen" ya da "koringa" adları (Sütçü, 2020) ile de bilinen korunga bitkisi, Anadolu'da milattan önceki dönemlerden itibaren hem Selçuklular hem de Osmanlılar döneminde yem bitkisi olarak değerlendirilmiştir. Günümüzde ise; genel olarak Orta ve Doğu Anadolu ile Geçit Bölgelerinde daha yaygın olarak yetiştirilmektedir (Açıkgöz, 2001; Ünal & Fıncioğlu, 2007).

Korunga (*Onobrychis viciifolia*) farklı iklim şartlarına dayanımı yüksek olan (kurağa ve soğuğa) çok yıllık bir baklagil yem bitkisidir (Ekiz vd., 2011; Tan & Serin, 2013; Dadaşoğlu & Tosun, 2017). Yabancı döllen bir bitki olduğundan, çiçekleri döllendikten sonra bitki üzerinde meyveler gelişmektedir. Korunga meyvesi farklı şekillerde olmakla birlikte genel olarak yarım daire şeklinde ve yassı bir bakla görünümündedir. İçerisinde tek tohum bulunmaktadır. Meyvelerinin kabukları ağ şeklinde, damarlıdır ve yarım daire şeklindeki kenarında bir çıkıntı oluşturur. Tohum ise; fasulyeye benzemekle birlikte, rengi koyu kahverengidir (Açıkgöz, 2001). Yaklaşık 100-120 cm boylanabilen, yüzeyi hafif tüylü ve yapraklarında 5-30 adet yaprakçık bulunmaktadır. Bunlar da yaklaşık 10-25 mm uzunluğunda, 3-8 mm genişliğinde kenarları düz bir yapıya sahiptir (Okçu, 2009). Çiçekleri genelde pembe ve salkım şeklinde, her bir salkım üzerinde yaklaşık 5-80 adet çiçek bulunmaktadır (Tasova & Özkurt, 2018).

Korunga zengin ve besleyici içeriği ile özellikle hayvansal üretim için yem bitkisi olarak değerlendirilmektedir (Delgado vd., 2008; Vasileva vd., 2019). Yapılan araştırmalara göre; içeriğinde yer alan yüksek miktardaki tanen ve polifenol bileşimleri bu bitkinin antihelmintik özelliğe sahip olduğunu ortaya koymuştur (Veitch vd., 2011; Sütçü, 2020). Otlayarak beslenen ruminantların sindirim organlarında biriken rumen gazının (metan ve amonyak gazının) neden olduğu şişlik (pro-antosiyandinler içerdiğinden) ve iç parazit enfeksiyonlarını önlemede etkili olduğu, protein kullanımını arttırdığı (Jones & Mangan, 1977; Thill vd.,

2012; Piluzza vd., 2014), diğer baklagillere göre bünyesindeki kalsiyum ve sodyum gibi mineraller daha az bulunmasına karşın; P, Mg ve K açısından zengin olduğu (Altındal & Altındal, 2018) böylelikle hayvan sağlığını olumlu yönde etkilediği ortaya konmuştur (Rumball & Claydon, 2005; Häring vd., 2007). Ayrıca, yapılan araştırmalara göre; diğer baklagil bitkilerinden farklı olarak çiçeklenme dönemi öncesinde (%21,20 ham protein, %2,10 ham yağ, %22,30 ham selüloz, %44,70 azotsuz öz madde bulunmaktadır) %20 oranında daha fazla protein içerdiği; çiçeklenme başlangıcı (%18,90), tam çiçeklenme döneminde (%17,30) ham protein miktarı düştüğü belirlenmiştir (Açıkgöz, 2001; Okçu, 2009; Özat, 2010).

Yem bitkisi olarak değerlendirilen korungadan kıraç toprak şartlarında dekara 1000 kg yeşil ot ve 200-250 kg kuru ot alındığı; sulu ortam koşullarında ise, kuru ot verimi dekara 500-1000 kg elde dildiği belirlenmiştir (Açıkgöz, 2013). Korunganın tohum verimi açısından ise; dekar başına yaklaşık 80-100 kg; sulanabilen alanlarda veya yağışın yeterli olduğu alanlarda bu verimin 150 kg'a kadar çıkabildiği saptanmıştır (Ekiz vd., 2011). Ülkemizde yapılan istatistiki çalışmalara göre; 2019 yılında 1 752 763 dekar alandan 1 781 789 ton yeşil ot, 2 025 dekar alandan ise, 111 ton tohumluk elde edilmiştir. Dekar başına ot verimi 1031 kg, tohum verimi ise 55 kg olarak belirlenmiştir (TUIK, 2019).

Doğal ve suni meralarda yetiştirilebilen korunga, kök yapısına bağlı olarak toprakta derinlere inebilme yeteneğine sahiptir. Bu özelliğinden dolayı yeraltı su kaynaklarına ulaşabilmekte ve su problemi olan arazilerde korunga bitkisi tercih edilmektedir (Çöçü, 2008; Okçu, 2009). Bunların yanında, *Rhizobium* bakterileri yardımı ile toprağa azot fikse etmekte ve toprak su kapasitesini de arttırmaktadır. Kıraç ve kireçli topraklarda da yetişebilmesi, münavebe bitkilerinden biri olarak üretici tarafından tercih edilmesine neden olmaktadır. Bu tarz topraklarda yetiştirilen bir diğer yem bitkisi olan yoncadan daha fazla verim sağlandığı belirlenmiştir (Tan & Sancak, 2009).

Korunga, diğer yandan arıcılık açısından da oldukça kıymetli bir bitkidir. Çiçeklenme döneminin diğer baklagil bitkilerine göre daha erken başlaması ve çiçeklerinin kokusunun albenili olması sebebi ile arıların bal, polen ve nektar üretimi için tercih ettiği bitkiler içerisinde yer almasına neden olmaktadır (Soya vd., 2004; Elçi, 2005; Delgado vd., 2008; Serin & Tan, 2008; Özbek, 2011; Koç & Akdeniz, 2017).

Bu çalışmada, bazı korunga genotiplerine ait tohumların bazı fiziksel özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yürütülmüştür. Belirlenen bu verilerin özellikle yapılacak olan ıslah çalışmalarına yardımcı olması amaçlanmıştır. Çalışmada, Bingöl ilinde yetiştirilen yedi

adet yerli ve ticari korunga tohumundan örnekler alınmış ve laboratuvar ortamında incelenmiştir. Ayrıca, elde edilen değerlerin bu bitkinin araziye ekiminde kullanılacak olan alet, makine ya da ekipman seçimine olumlu yönde katkı yapması da hedeflenmiştir. Böylelikle ekim sırasında oluşabilecek tohum kayıplarının (boşluk-ikizlenme) önüne geçilerek üreticinin gereksiz ürün kullanımını önleyeceğinden ekonomik olarak da üreticiyi desteklemesi amaçlanmıştır

## MATERYAL VE METOT

Bu çalışma, 2019-2020 yıllarında Bingöl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Biyosistem Mühendisliği ve Tarla Bitkileri Bölümü ile Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makinaları ve Teknolojileri Mühendisliği bölümlerine ait laboratuvarlarda yürütülmüştür. Çalışmada materyal olarak 7 adet korunga genotipine ait tohumlar kullanılmıştır (Tablo 1).

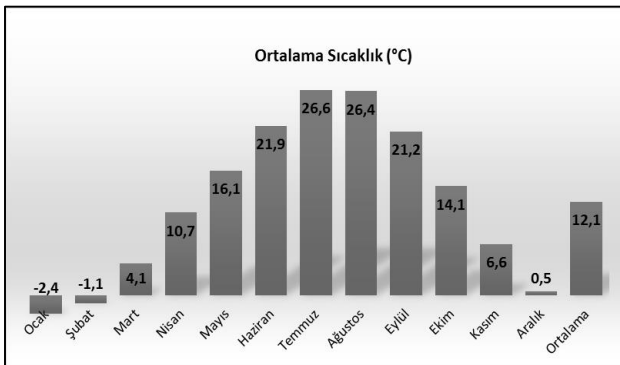
**Tablo 1.** Araştırmada kullanılan korunga genotipleri ve temin edildikleri yerler.

**Table 1.** The sainfoin genotypes used in the study and where they were obtained.

No	Genotipler	Genotiplerin temin edildiği yerler
1	Adaklı	Bingöl ili Adaklı ilçesi
2	Doğanca	Bingöl ili Genç ilçesi, Doğanca köyü
3	Fatih	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
4	Genç	Bingöl ili Genç İlçesi, İlçe Tarım Müdürlüğü
5	Mehmet Ali Bey	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü
6	Yedisu	Bingöl ili Yedisu İlçesi
7	Yunus	Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü

### Bingöl ilinin iklim ve toprak özellikleri:

Meteoroloji Genel Müdürlüğü'nden alınan 1961-2019 yılları iklim verilerine göre (MGM, 2020); genel olarak Bingöl ilinin aylık ortalama sıcaklık değerinin 12,1 °C, en sıcak ayların Temmuz ve Ağustos, en soğuk ayların ise Ocak ve Şubat ayları olduğu görülmektedir (Şekil 1).



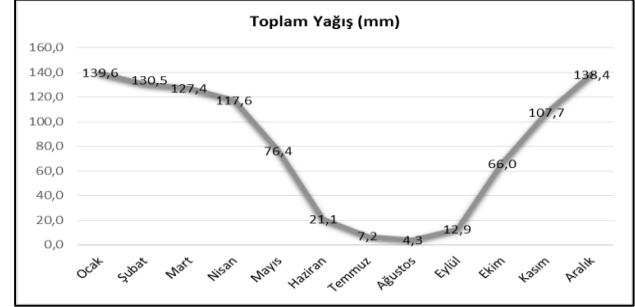
**Şekil 1.** Bingöl ilinin uzun yıllar ortalamasına ait ortalama sıcaklık değerleri (°C).

**Figure 1.** Average temperature values of Bingöl province for the long years (°C).

Bingöl ilinin uzun yıllar toplam yağış miktarı 949,1 mm'dir. En fazla yağışın Aralık ve Ocak aylarında,

en düşük yağış miktarının ise Temmuz ve Ağustos aylarına düştüğü görülmektedir (Şekil 2).

Bingöl ili toprakları genel olarak; killi-tınlı yapıda, nötr veya nötre yakın reaksiyonda, tuzluluk problemi olmayan, az kireçli ve orta kireçli arasında, organik madde miktarı düşük, fosfor bakımından yetersiz ve potasyum bakımından ise yeterli düzeyde bir yapı göstermektedir (Ateş & Turan, 2015).



**Şekil 2.** Bingöl ilinin uzun yıllar ortalamasına ait yağış miktarı (mm).

**Figure 2.** The average rainfall of Bingöl for many years (mm).

**Yöntem:** Araştırmada, korunga genotiplerine ait tohumların fiziksel özellikleri aşağıda belirtilen yöntemler izlenerek belirlenmiştir.

**Korunga tohumlarına ait fiziksel özellikler:** Tohumlara ait temel özelliklerden biri olan şekil-boyut bilgileri her bir tohum tanesinin uzunluk (mm), genişlik (mm) ve kalınlık (mm) verileriyle oluşturulmaktadır. Bitkilere ait genotipler aynı olsa dahi farklı iklim, coğrafya, toprak özelliklerine (pH, tuzluluk, kuraklık vb.) bağlı olarak tohum ölçüleri değişim gösterebilmektedir. Bu nedenle, yapılan araştırmalar sonucunda tohumlar geometrik özelliklerine (uzun-orta-kısa) (Tablo 2) ve şekil özelliklerine (yuvarlak-oval-uzun) (Tablo 3) göre ayrı ayrı incelenmektedir (Yağcıoğlu, 2015). Belirlenen özelliklere bağlı olarak çeşit geliştirme ya da mevcut tohumun özelliklerini iyileştirmeye dair tohum uygulamalarına (hormon, ilaç vb.) başvurulabilmektedir.

**Tablo 2.** Geometrik özelliklerine göre tohumların sınıflandırılması.

**Table 2.** Classification of seeds according to their geometric properties.

Geometrik özelliklerine göre tohumlar	Tane genişliği/Tane uzunluğu(b/a) (mm)
Uzun	0,6
Orta	0,6 – 0,7
Kısa	> 0,7

Tohumların yapısal bu özelliğine bağlı olarak ekim makinasından hasada ve sonrasında ürün işleme aşamalarında kullanılacak olan alet-makine sistemleri bu verilere göre tasarım-üretimi gerçekleştirilmektedir. Böylelikle tarımsal üretim sistemi içerisinde gerekli ve ihtiyaç olan kısımlar tamamlanarak mümkün olabilecek en az ürün kaybı ile üretim ve sonrasındaki basamaklar gerçekleştirilmektedir.

**Tablo 3.** Şekil özelliklerine göre tohumların sınıflandırılması.  
**Table 3.** Classification of seeds according to shape characteristics.

Şekil özelliklerine göre tohumlar	Uzunluk (a), Genişlik (b), Kalınlık (c) (mm)
Yuvarlak	$a \approx b \approx c$
Oval	$a/3 < b \approx c$
Uzun	$c < b < a/3$

Bu çalışmada, yerel ve ticari tohumların bir araya gelmesiyle oluşturulan yedi farklı genotipe sahip korunga tohumları öncelikle yedi ayrı gruba ayrılmış ve rastgele örneklenerek 100'er adet korunga tohumlarına ait uzunluk (mm), genişlik (mm) ve yüzey alan ( $\text{mm}^2$ ) değerleri kendine ait yazılımı (Image Focus 4.0 v2.4) olan stereo mikroskop (Nexius Zoom marka) ile belirlenmiştir (Dumanoğlu vd., 2019; Dumanoğlu & Geren, 2020).

Korunga tohumlarının şekil-boyut özelliklerine dair veriler belirlendikten sonra bu veriler kullanılarak tohumlar ait ortalama geometrik (mm) ve ortalama aritmetik çap (mm) değerleri ile küresellik verileri belirlenebilmektedir. Bu bilgilerin belirlenmesinde yıllar içerisinde yapılan araştırmalar sonucunda belirlenen eşitliklerden faydalanılmaktadır (Mohsenin, 1970; Alayunt, 2000; Kara, 2012).

**Ortalama Aritmetik Çap:**

$$D: (L + W)/2 \quad (1)$$

D: Tohuma ait ortalama aritmetik çap (mm)

L: Tohuma ait uzunluk değeri (mm)

W: Tohuma ait genişlik değeri (mm)

**Ortalama Geometrik Çap:**

$$D_0: (L * D^2)^{1/3} \quad (2)$$

D<sub>0</sub>: Tohuma ait ortalama geometrik çap (mm)

L: Tohuma ait uzunluk değeri (mm)

D: Tohuma ait ortalama aritmetik çap (mm)

**Küresellik:**

$$\Phi: D_0/L \quad (3)$$

$\Phi$  : Tohumun küresellik değeri

D<sub>0</sub> : Tohum ortalama geometrik çap (mm)

L : Tohum uzunluğu (mm)

Bir başka temel özellik olan tohumlara ait bin dane ağırlıkları (g) her bir korunga tohumlarından oluşan gruptan alınan örneklerin üçer tekrarlı olacak şekilde Radwag AS 220.R2 analitik terazi (0,0001 g hassasiyetine) ile tartımları yapılarak belirlenmiştir (ISTA, 2007; Dumanoğlu & Çakmak, 2019).

Korunga tohumlarına ait belirlenen bu fiziksel özellikler, özellikle bu tohumun kullanılacağı ürün işleme basamaklarında başvuru verileridir. Bu değerler yardımı ile hazırlanan alt-makine sistemleri ekim işleminden ürünün hasat edilerek tarımsal işletme içerisinde tohumluk-ürün olarak ayrılıp paketlenerek tüketiciye ulaşacağı son basamağa kadar kullanılmaktadır.

**İstatistiksel analiz:** Bu çalışmada, korunga tohumlarına ait bazı fiziksel (şekil-boyut, yüzey alan, ortalama aritmetik-geometrik çap, küresellik, bin tane

ağırlığı) özellikleri belirlenmeye çalışılmıştır. Bu araştırmada, yedi farklı genotipten alınan korunga tohumları üçer tekrarlı olacak şekilde tesadüf deneme parselleri deneme desenine göre incelenmiş; elde edilen veriler SPPSS V.21 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. İlk olarak, One-Way ANOVA testi ile tohumların farklılığı  $p < 0,05$  düzeyinde belirlenmiş; sonrasında değerlere TUKEY testi uygulanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

**Korunga tohumlarına ait uzunluk, genişlik (şekil-boyut) ve yüzey alan:** Yapılan istatistik analizi sonucunda incelenen özellikler açısından genotiplere ait tohumların  $p < 0,05$  önemlilik düzeyinde birbirlerinden farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Korunga genotiplerine ait tohumların stereo mikroskop kullanılarak belirlenen uzunluk (mm), genişlik (mm) ve yüzey alanları ( $\text{mm}^2$ ) ortalama olarak sırasıyla 3,250 mm, 2,224 mm ve 5,612  $\text{mm}^2$  olarak belirlenmiştir. Uzunluk, genişlik ve yüzey alanı açısından en düşük değerler Genç ilçesi Doğanca köyü genotipine ait tohumlarda ölçülmüştür. En yüksek uzunluk değeri (3,324 mm) ile en geniş yüzey alanı (5,896  $\text{mm}^2$ ) Mehmet Ali Bey genotipine ait tohumlarda, en yüksek genişlik değeri ise Yunus genotipine ait tohumlarda (2,301 mm) ölçülmüştür (Tablo 4).

Ertuğrul (1998) incelediği korunga tohumlarının boyutlarında uzunluk değerlerinin 1,13-4,28mm arasında değiştiğini belirtmiştir. Sancak vd. (2010) ise; tohumların uzunluk değerlerini 3,5-4,8 mm, genişlik değerlerini ise 2,7-3,4 mm olarak ölçmüşlerdir. Acar ve Ayan (2012), korunga tohumlarının uzunluğunun 2,5 mm, eninin 2,0-3,5 mm ve kalınlığının ise 1,5-2,0 mm arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Tasova ve Özkurt (2018), Özerbey çeşidine ait korunga tohumlarını inceledikleri çalışmalarında tohumların ortalama 6,14 mm uzunluk, 4,57 mm genişlik, 61,34  $\text{mm}^2$  yüzey alan ölçüsüne sahip olduğunu bildirmişlerdir.

**Tablo 4.** Korunga tohumlarına ait uzunluk ve genişlik değerleri ve ortalamaları.

**Table 4.** Sainfoin seeds Length and width values and averages.

Genotipler	Uzunluk (mm)		Genişlik (mm)		Yüzey alan ( $\text{mm}^2$ )	
	Ort.	Stdv.	Ort.	Stdv.	Ort.	Stdv.
Adaklı	3,190 <sup>bc</sup>	0,316	2,202 <sup>bc</sup>	0,251	5,428 <sup>bc</sup>	1,074
Doğanca	3,157 <sup>a</sup>	0,294	2,147 <sup>a</sup>	0,219	5,192 <sup>a</sup>	0,967
Genç	3,225 <sup>abc</sup>	0,318	2,194 <sup>bc</sup>	0,222	5,468 <sup>bc</sup>	0,947
Yedisu	3,272 <sup>abc</sup>	0,357	2,243 <sup>abc</sup>	0,228	5,793 <sup>ab</sup>	1,176
Fatih	3,299 <sup>ab</sup>	0,302	2,231 <sup>abc</sup>	0,207	5,717 <sup>ab</sup>	0,982
M.A. Bey	3,324 <sup>a</sup>	0,330	2,247 <sup>ab</sup>	0,220	5,896 <sup>a</sup>	1,065
Yunus	3,281 <sup>abc</sup>	0,287	2,301 <sup>a</sup>	0,289	5,793 <sup>ab</sup>	0,839
<b>Ortalama</b>	3,250	0,315	2,224	0,234	5,612	1,007
<sup>ab</sup> <b>Önem.</b>	a:0,078 b:0,119 c:0,286		a: 0,063 b:0,685 c:0,356		a:0,459 b:0,144 c:0,875	

M.A.: Mehmet Ali

Bu çalışma içerisinde incelenen tüm korunga genotiplerinin orta boyutta oval bir şekle sahip olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar önceki yapılan çalışmalar ile örtüşmektedir. Töke, (2002) incelemiş olduğu korunga tohumlarının %68'inin orta iriliğe sahip

olduğunu, bunların %26,7'sinin ise oval bir şekle sahip olduğunu belirtmiştir. Cebeci, (2011), farklı ülkelerden gelen 20 farklı kültür korunga tohumlarının (*Onobrychis viciifolia* Scop. ve *Onobrychis altissima* Grossh) incelediği çalışmasında 3 tanesini küçük, 17 adetinin ise orta büyüklüğe sahip olduğunu belirlemiştir.

**Ortalama aritmetik ve geometrik çap ile küresellik:** Yapılan istatistik analizi sonucunda aritmetik çap, geometrik çap ve küresellik açısından genotiplere ait tohumların  $p < 0,05$  önemlilik düzeyinde birbirlerinden farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Tohumlara ait uzunluk, genişlik ve yüzey alanı belirlendikten sonra elde edilen veriler değerlendirilerek ortalama aritmetik-geometrik çap ile küresellik verileri saptanmıştır. Genel olarak, korunga tohumlarına ait ortalama aritmetik-geometrik çap değerleri sırasıyla 2,736 mm ve 8,311 mm, küresellik değerleri de 2,516 olarak bulunmuştur (Çizelge 5). Tasova ve Özkurt, (2018), Özerbey korunga çeşidi ile yapmış oldukları çalışmalarında, tohumların ortalama geometrik çap değerlerini 4,41 mm, küresellik değerini ise %72 olarak belirlemiştir.

**Tablo 5.** Korunga tohumlarına ait ortalama aritmetik-geometrik çap ile küresellik değerleri.

**Table 5.** Average arithmetic-geometric diameter and sphericity values of sainfoin seeds.

Genotipler	Ort. Aritmetik Çap (mm)		Ort. Geometrik Çap (mm)		Küresellik		
	Ort.	Stdv.	Ort.	Stdv.	Ort.	Stdv.	
Popülasyon	Adaklı	2,692 <sup>ab</sup>	0,255	7,884 <sup>ab</sup>	2,176	2,437 <sup>ab</sup>	0,459
	Doğanca	2,652 <sup>b</sup>	0,240	7,579 <sup>b</sup>	2,088	2,363 <sup>b</sup>	0,428
	Genç	2,710 <sup>ab</sup>	0,252	8,097 <sup>ab</sup>	2,236	2,468 <sup>ab</sup>	0,453
	Yedisu	2,758 <sup>a</sup>	0,274	8,546 <sup>a</sup>	2,567	2,559 <sup>a</sup>	0,505
Çeşit	Fatih	2,765 <sup>a</sup>	0,234	8,589 <sup>a</sup>	2,189	2,567 <sup>a</sup>	0,432
	M. Ali Bey	2,786 <sup>a</sup>	0,244	8,802 <sup>a</sup>	2,457	2,606 <sup>a</sup>	0,464
	Yunus	2,791 <sup>a</sup>	0,234	8,677 <sup>a</sup>	2,084	2,614 <sup>a</sup>	0,437
	Ortalama	2,736	0,248	8,311	2,257	2,516	0,454
<sup>ab</sup> Önem.	a:0,650 b:0,073		a:0,670 b:0,064		a:0,659 b:0,087		

Korunga tohumları içerisinde en yüksek ortalama aritmetik çap, geometrik çap ve küresellik değerleri Yunus, Mehmet Ali Bey, Fatih ve Yedisu genotiplerine ait tohumlarında tespit edilmiştir. En düşük aritmetik çap, geometrik çap ve küresellik değerleri ise Genç ilçesi Doğanca köyüne ait genotipinden elde edilmiştir. Adaklı ve Genç İlçe Tarım Müdürlüğünden temin edilen Genç genotipinin de istatistiksel olarak en düşük değeri veren grupta olduğu görülmektedir (Tablo 5).

**Bin dane ağırlıkları:** Korunga genotipleri arasında  $p < 0,05$  önemlilik düzeyinde istatistiki olarak bir fark bulunmadığı belirlenmiştir (Tablo 6). Korunga tohumlarının genel olarak ortalama bin dane ağırlıkları (g) 22,315 g olarak belirlenirken; göreceli olarak en ağır tohumlar Fatih genotipine ait tohumlarda (24,533 g), en hafif tohumlar ise, Doğanca genotipine ait tohumlarda (20,120 g) belirlenmiştir (Tablo 6).

Korunga tohumlarının bin dane ağırlığının 17-32 g arasında değiştiği Açıkgöz, (2001) tarafından bildirilmiştir. Çeçen vd., (2015) üç yıl süre ile Antalya bölgesinin doğal florasından toplayarak inceledikleri 25

korunga popülasyonunun bin dane ağırlıklarının 20-29 g arasında değiştiğini aktarmışlardır. Acar ve Ayan, (2012), korunga bitkisine ait tohumların bin dane ağırlığını ortalama 23 g (meyveli) olduğunu bildirmişlerdir.

**Tablo 6.** Korunga tohumlarına ait bin dane ağırlıkları.

**Table 6.** Thousand grain weights of sainfoin seeds.

Genotipler	Bin dane ağırlığı (g)		
	Ort.	Stdv.	
Popülasyon	Adaklı	21,173	0,140
	Doğanca	21,120	0,106
	Genç	20,160	0,936
	Yedisu	23,217	0,225
Çeşit	Fatih	24,533	0,167
	Mehmet Ali Bey	22,893	0,167
	Yunus	23,107	0,266
	Ortalama	22,315	0,287

Korunga tohumlarının bin dane ağırlığının 17-32 g arasında değiştiği Açıkgöz, (2001) tarafından bildirilmiştir. Çeçen vd., (2015) üç yıl süre ile Antalya bölgesinin doğal florasından toplayarak inceledikleri 25 korunga popülasyonunun bin dane ağırlıklarının 20-29 g arasında değiştiğini aktarmışlardır. Acar ve Ayan, (2012), korunga bitkisine ait tohumların bin dane ağırlığını ortalama 23 g (meyveli) olduğunu bildirmişlerdir.

Çalışmada incelenen yedi farklı korunga genotipden gelen tohumların genel olarak orta boyutlarda ve oval bir yapıda; 2,736 mm ortalama aritmetik çap değerine, 8,311 mm ortalama geometrik çap değerine ve 2,516 ortalama küresellik değerine; ortalama 22,315 g bin dane ağırlığına sahip olduğu belirlenmiştir.

## SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmada birbirinden farklı yedi ayrı genotipe ait korunga tohumları incelenmiştir. Adaklı, Doğanca, Yedisu ve Genç İlçe Tarım Müdürlüğünden temin edilen genotipler yerel popülasyon niteliğinde olan genotipler, Fatih, Mehmet Ali Bey ve Yunus genotipleri ise, çeşit adayı olan genotiplerdir. Tohumların fiziksel özelliklerini gösteren uzunluk, genişlik ve yüzey alanı açısından çeşit adayı olan Fatih, Mehmet Ali Bey ve Yunus genotiplerinin yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Popülasyon genotiplerinin ise, düşük değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak bunlar arasında Yedisu ilçesinden temin edilen genotipin, çeşit adayları ile aynı istatistiksel grup içerisinde yer alarak yüksek değer alan tohumlar arasında yer almıştır. Yedisu genotipinin bu özelliğini ayrıca aritmetik çap, geometrik çap, küresellik ve bin tane ağırlığında da göstermiştir. Dolayısıyla bu çalışma neticesinde, çeşit adayı olan Fatih, Mehmet Ali Bey ve Yunus genotipleri ile Yedisu ilçesinden alınan genotiplerin üstün özelliklere sahip olduğu saptanmıştır.

## KAYNAKLAR

- Acar, Z. & Ayan, I. (2012).** *Yem bitkileri kültürü.* Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ders Kitabı No:2, Samsun.
- Açıkgöz, E. (2001).** *Yem bitkileri.* Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı Yayın No: 182, Bursa.
- Açıkgöz, E. (2013).** *Yem Bitkileri yetiştiriciliği.* Sütas Süt Hayvancılığı Eğitim Merkezi Yayınları No: 8, Bursa.
- Alayunt, F.N. (2000).** *Biyolojik malzeme bilgisi.* Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Makineleri Bölümü Ders Kitabı, Ege Üniv. Ziraat Fak. Yayınları No: 541.
- Altındal, D. & Altındal, N. (2018).** Allelopathic effects of olive oil mill wastewater (omw) on sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) germination. *International Journal Of Agriculture Forestry and Life Sciences*, 2(2), 87-92.
- Ateş, K. & Turan, V. (2015).** Bingöl ili merkez ilçesi tarım topraklarının bazı özellikleri ve verimlilik düzeyleri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 2(2), 108-113.
- Avcı, S. (2010).** *Türkiye'de doğal olarak yetişen yabani korunga (Onobrychis sp.) türlerinin toplanması ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi.* Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Burton, J.C. & Curley, R.L. (1968).** Nodulation and nitrogen fixation in sainfoin (*Onobrychis sativa* LAM.) as influenced by strains of rhizobia. *Sainfoin Symposium*, 3-5.
- Carbonero, C.H. (2011).** *Sainfoin (Onobrychis viciifolia), a forage legume with great potential for sustainable agriculture, an insight on its morphological, agronomical, cytological and genetic characterisation.* Doctor of Philosophy Thesis, Faculty of Life Sciences, United Kindom.
- Cebeci, H. (2011).** *Farklı kökenli korunga (Onobrychis viciifolia Scop. ve Onobrychis altissima Grossh) Populasyonlarının tarımsal özelliklerinin belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Çeçen, S., Öten, M. & Erdurmuş, C. (2015).** Antalya doğal florasında bulunan korunga (*Onobrychis sativa* L.) populasyonlarının toplanması ve morfolojik özelliklerinin belirlenmesi. *Derim*, 32(1), 63-70.
- Çöçü, S. (2008).** *Böceklerle dayanıklı transgenetik korunga (Onobrychis sativa Lam.) bitkilerinin elde edilmesi.* Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Dadaşoğlu, E. & Tosun, M. (2017).** Bazı bitki hormonlarının korunga (*Onobrychis sativa* L.) in vitro özellikler üzerine etkisi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitü Dergisi*, 7(3), 267-278.
- Delgado, I., Salvia, J., Buil, I. & Andrés, C. (2008).** The agronomic variability of a collection of sainfoin accessions. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6(3), 401-407.
- Dumanoğlu, Z., Ozkan, S.S. & Topcu, G.D. (2019).** İtalyan çimi (*Lolium multiflorum* L.) çeşitlerine ait tohumların bazı fiziksel özelliklerinin belirlenmesi. *Uluslararası Tarım ve Yaban Hayatı Bilimleri Dergisi*, 5(2), 292-298.
- Dumanoğlu, Z. & Çakmak, B. (2019).** Tohum uygulamalarının soğan (*Allium cepa* L.) tohumunun bazı fiziksel ve mekanik özelliklerine etkisi. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 33(1), 53-66.
- Dumanoğlu, Z. & Geren, H. (2020).** An investigation on determination of seed characteristics of some gluten-free crops (*Amarantus mantegazzianus*, *Chenopodium quinoa* Willd., *Eragrostis tef* [Zucc] Trotter, *Salvia hispanica* L.). *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*. 8(8), 1650-1655.
- Ekiz, H., Altınok, S., Sancak, C., Sevimay, C.S. & Kendir, H. (2011).** *Tarla bitkileri (V. Yem Bitkileri Çayır ve Mera).* Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Yayın No: 1588, Ankara.
- Elçi, S. (2005).** *Baklagil ve buğdaygil yem bitkileri.* Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, 486s, Ankara.
- Ertuğrul, V. (1998).** *Seçilmiş Korunga bitkilerinde çiçek tozu, meyve ve tohum özellikleri.* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Gençkan, M.S. (1983).** *Yem Bitkileri tarımı.* Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:467, İzmir.
- Häring, D.A., Suter, D., Amrhein, N. & Lüscher, A. (2007).** Biomass allocation is an important determinant of the tannin concentration in growing plants. *Annals of Botany*, 99, 111-120.
- Jones, W.T. & Mangan, J.L. (1977).** Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillarymucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 126-136
- International Rules for Seed Testing (ISTA). 2007.** International Rules for Seed Testing Book.
- İnce, S. (2007).** *Farelerde korunga bitkisinin (Onobrychis viciifolia) bağırsaklara etkisi.* Doktora Tezi,

- Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Kara, M. (2012).** *Biyolojik Ürünlerin fiziksel özellikleri.* Atatürk Üniv. Ziraat Fakültesi Yayınları No: 242.
- Koç, A. & Akdeniz, H. (2017).** Gözlu ve Altınova tarım işletmelerinde ıslah edilen korunga çeşitlerinin verim ve bazı tarımsal özellikleri üzerine ön araştırmalar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, **20**, 6-12.
- MGM. (2020).** *Tarım ve Orman Bakanlığı Meteoroloji Genel Müdürlüğü.* <http://www.mgm.gov.tr>".
- Okçu, M. (2009).** *Doğu Anadolu bölgesinde yabani olarak yetişen korunga (Onobrychis spp.)'ların Teşhisi ve bazı özelliklerinin belirlenmesi.* Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye.
- Özat, H. (2010).** *Bazı yabani korunga türlerinin ex vitro hızlı çoğaltımı.* Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye.
- Özbek, H. (2011).** Korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.): Önemli bir arı bitkisi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, **11**(2), 51-62.
- Mohsenin, N.N. (1970).** *Physical properties of plant and animal materials.* Gordon and Breach Science Publishersö, New York.
- Rumball, W. & Claydon, B. (2005).** Germplasm release 'G35' Sainfoin (*Onobrychis vicifolia*). *New Zealand Journal of Agricultural Research*, **48**, 127-128.
- Piluzza, G., Sulas, L. & Bullitta, S. (2014).** Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: A Review. *Grass and Forage Science*, **69**(1), 32-48.
- Sancak, C., Özcan, S., Çöçü, S. & Avcı, S. (2010).** Heliobrychis seksiyonuna ait bazı korunga (*Onobrychis sp.*) Türleri üzerinde morfolojik araştırmalar. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, **19**(1-2), 11-16
- Serin, Y. & Tan, M. (2008).** *Baklagil yem bitkileri.* Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No:190, 178 s, Erzurum.
- Sütçü, T. (2020).** *Bazı korunga hatlarının mikrosatellit (SSR) belirteçleri ile genetik karakterizasyonu.* Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye.
- Soya, H., Avcıoğlu, R. & Geren, H. (2004).** *Yem bitkileri.* Hasad Yayıncılık, İstanbul.
- Tan, M. & Sancak, C. (2009).** Korunga (*Onobrychis viciifolia* Scop.)". In: Avcıoğlu, R., Hatipoğlu, R. & Karadağ, Y. (Ed.), *Yem bitkileri (Baklagil Yem Bitkileri Cilt II)* (s. 3337). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü, İzmir.
- Tan, M. & Serin, Y. (2013).** Baklagil yem bitkileri (Genişletilmiş 4. basım). *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Yayınları*, **190**, 77-80.
- Tasova, M. & Özkurt M. (2018).** Korunga (*Onobrychis sativa* L.) tohumluğunun bazı biyoteknik ve renk özelliklerinin belirlenmesi. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, **1**(2), 48-58.
- Tepe, İ. (2019).** *Farklı korunga genotiplerinin ot verim ve kalitesinin belirlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Kayseri, Türkiye.
- Thill, J., Regos, I., Farag, M.A., Ahmad, A.F., Kusek, J., Castro, A., Sclangen, K., Carbonero, H.C., Gadjev, I.Z., Smith, M.J.L., Halbwirth, H., Treutter, D. & Stich, K. (2012).** Polyphenol metabolism provides a screening tool for beneficial effects of *Onobrychis viciifolia* (Sainfoin). *Phytochemistry*, **82**, 67-80.
- Töke, N. (2002).** Korunga populasyonlarında seçilen genotiplerin bazı tarımsal ve bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Konya, Türkiye.
- TUIK. (2019).** *Türkiye İstatistik Kurumu, Bitkisel Üretim İstatistikleri.* <http://www.tuik.gov.tr>
- Ünal, S. & Fıncıoğlu, H.K. (2007).** Korunga hat ve populasyonlarında fenolojik, morfolojik ve tarımsal özelliklerin incelenmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, **16**(1-2), 31-80.
- Vasileva, V., Naydenovo, Y. & Stoycheva, I. (2019).** Nutritive value of forage biomass from sainfoin mixtures. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **26**, 942-949.
- Veitch, N.C., Regos, I., Kite, G.C. & Tretter, D. (2011).** Acylated flavonol glycosides from forage legume, *Onobrychis viciifolia*(Sainfoin). *Phytochemistry*, **72**, 423-429.
- Yağcıoğlu, A. (2015).** *Ürün işleme.* Ege Üniversitesi Yayınları Ziraat Fakültesi Yayın No: 517, Genişletilmiş 2. Baskı.





## Farklı Sucul Sistemlerden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması<sup>[\*]</sup>

Neslihan GÜNGÖR<sup>1</sup> Zeynep Zehra İPEK<sup>2\*</sup> Akif ER<sup>2</sup> Şevki KAYIŞ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tarım ve Orman Bakanlığı, Çınarcık, Yalova, Türkiye

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize, Türkiye

Geliş Tarihi: 05 Ekim 2020

Kabul Tarihi: 22 Ocak 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Güngör, N., İpek, Z.Z., Er, A. & Kayış, Ş. (2021). Farklı Sucul Sistemlerden İzole Edilen Bakterilerin Antibiyotik Dirençliliklerinin Karşılaştırılması. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 25-30.

How to cite: Güngör, N., İpek, Z.Z., Er, A. & Kayış, Ş. (2021). Comparison of Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Different Aquatic Systems. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 25-30.

<https://orcid.org/0000-0002-6585-4520>  
 <https://orcid.org/0000-0002-5916-1891>  
 <https://orcid.org/0000-0002-0052-5590>  
 <https://orcid.org/0000-0002-9391-7613>

**\*Sorumlu yazarın:**

Zeynep Zehra İPEK  
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize, Türkiye  
✉: [zeynep.ipek@erdogan.edu.tr](mailto:zeynep.ipek@erdogan.edu.tr)

**\*Corresponding author's:**

Zeynep Zehra İPEK  
Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, 53100 Rize, Turkey  
✉: [zeynep.ipek@erdogan.edu.tr](mailto:zeynep.ipek@erdogan.edu.tr)

**Öz:** Bu çalışmada Doğu Karadeniz Bölgesi'nde iki farklı sucul sistemde (deniz ve tatlı su) bazı balıklardan izole edilen bakterilerde antibiyotik dirençliliği karşılaştırılmıştır. Rize kıyılarında, denizel ortamdan örneklenen, denizotu (*Hippocampus guttulatus*), mezgit (*Merlangius merlangus*), levrek (*Dicentrarchus labrax*), istavrit (*Trachurus mediterraneus*), palamut (*Sarda sarda*), gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve karides (*Philocheras trispinosus*) olmak üzere 7 farklı konaktan toplamda 15 bakteri izolatu kullanılmıştır. Tatlı su örnekleri olarak ise Artvin ilinde yer alan Deriner Baraj Gölü'nde, 6 farklı sazın türlerinden izole edilen toplam 32 adet bakteri izolatu kullanılmıştır. İzolatların, Ampisilin (AM10µg), Gentamisin (CN10µg), Oksitetrasiklin (T30µg), Amoksisilin- Klavulanik Asit (AMC10µg), Enrofloksasin (ENR5µg), Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT25µg), Florfenikol (FFC30µg), Sulfametoksazol (SMZ25µg), Eritromisin (E15µg) olmak kaydıyla 9 farklı antibiyotige karşı dirençlilik durumları disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. İzolatlar içerisinde *Aeromonas* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin ayrıca antibiyotik dirençliliği incelenmiştir (MAR). Farklı sucul sistemlerden izole edilen bakterilerin çoğul antibiyotik direnç indeksleri irdelendiğinde, tüm sistemlerde MAR indeksi eşik değer olan 0,2'den yüksek kaydedilmiştir. Denizel kökenli izolatlar, Ampisilin ve Enrofloksasin dışındaki tüm antibiyotiklere karşı dirençli bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Antibiyotik, bakteri, balık, direnç, sucul sistemler.

## Comparison of Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Different Aquatic Systems

**Abstract:** In this study, antibiotic resistance of bacteria isolated from some fish in two different aquatic systems (sea and fresh water) in the Eastern Black Sea Region was compared. A total of 15 bacterial isolates from 7 different hosts, including seahorse (*Hippocampus guttulatus*), haddock (*Merlangius merlangus*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*), horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*), bonito (*Sarda sarda*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and shrimp (*Philocheras trispinosus*), were used in marine environment, in Rize's coast. In fresh water samples, a total of 32 bacterial isolates isolated from 6 different carp species Deriner Dam Lake in Artvin province, were used. The resistance of the isolates to 9 different antibiotics including Ampicillin (AM10µg), Gentamicin (CN10µg), Oxytetracycline (T30µg), Amoxicillin-Clavulanic Acid (AMC10µg), Enrofloxacin (ENR5µg), Trimethoprim / Sulfamethoxazole (SXT25µg), Florphenicol, (FFC30µg), Sulfamethoxazole (SMZ25µg), Erythromycin (E15µg) was determined by disk diffusion method. Among the isolates, bacteria of the genus *Aeromonas* and *Pseudomonas* were also investigated for antibiotic resistance (MAR). When the multiple antibiotic resistance indices of bacteria isolated from different aquatic systems are examined, the MAR index in all systems was recorded higher than the threshold value of 0.2. Marine isolates were more resistant to all antibiotics except Ampicillin and Enrofloxacin.

**Keywords:** Antibiotic, aquatic systems, bacteria, fish, resistance .

<sup>[\*]</sup> Bu makale, Neslihan Güngör'ün yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

This manuscript was produced from Neslihan Güngör's master thesis.

## GİRİŞ

Sucul canlılar arasında yer alan ve çok farklı tür çeşitliliğine sahip olan balıklar, diğer tüm canlılar gibi, farklı hastalıklara maruz kalabilmektedir. Hastalıkların nedenleri genel olarak, beslenme, çeşitli stres faktörleri, çevresel etkiler ve patojenler olarak kategorize edilmektedir. Patojenik hastalık etmenleri ise kendi içinde bakteriler, parazitler, mantarlar ve virüsler olarak sınıflandırılmaktadır (Lasee, 1995).

Günümüzde balık patojeni bakteriler ile enfekte olan balıkların hastalıklarına dair oldukça fazla rapora dünya genelinde rastlamak mümkündür (Austin & Austin, 2007). Ülkemizde 1960'lı yıllardan günümüze kadar konu ile ilgili oldukça geniş bir literatür oluşmuştur. Türkiye'de 2014 yılında farklı balıklardan izole edilen bakteriler, tür bazında 48 olarak bildirilmiştir (Öztürk & Altınok, 2014). Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar ile bu sayı giderek artmaktadır (Kacar & Balta, 2017; Akkan & Topkaraoğlu, 2019).

Yetiştiricilik sistemlerinde oldukça yüksek mortaliteye neden olan bakterilerle mücadelede en önemli ajan şüphesiz antibiyotiklerdir. Antibiyotikler, doğal veya sentetik olarak elde edilen ve birçok mikroorganizmanın üremesini engelleyen ya da ölümüne neden olan ajanlar olarak tanımlanmaktadır (Sekkin & Kum, 2011). Günümüzde su ürünleri alanında, bakterilere karşı antibiyotik kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır (Balta vd., 2016; Kayış, 2019).

Türkiye'de yetiştiricilik faaliyetlerinin yapıldığı işletmelerde antibiyotiklerin kullanımına bakıldığında, sulfadiazin+trimetoprim, amoksisilin-klavulanik asit, florfenikol, oksitetrasiklin, enrofloksasin ve oksolinik asit etken maddelerini içeren 41 ruhsatlı balık preparatının mevcut olduğu bildirilmiştir (Akşit, 2016). Hastalıklarla mücadelede önemli bir paya sahip olan antibiyotiklerin oldukça sık kullanılması doğal olarak bazı problemlere de sebep olmuştur. Kullanımın getirdiği maliyetten daha önemlisi, antibiyotiklerin canlılara ve çevreye verdiği zararlarıdır. Antibiyotikler bakteriyostatik ve bakterisit olarak, bakteriler üzerine biyokimyasal yoldan etki ederler (Gülây, 2017). Antibiyotiklerin etki mekanizması, bakterilerin direnç genleri sayesinde zamanla veya bakterinin kendi DNA yapısında bulunan doğal direnci ile direkt olarak etkisini kaybetmektedir (Caruso, 2016). Bu direnç mekanizmaları ise, bakterilere karşı yeni antibiyotiklerin üretilmesini veya daha fazla antibiyotik kullanımını zorunlu hale getirmektedir. Bu nedenle bilim insanları çeşitli bakterilerin antibiyotik direnç mekanizmalarını yaygın olarak çalışmaktadır. Sucul sistemler ise birikim özelliklerinden dolayı, özellikle çalışılan ve takip edilen sistemlerdir. Bu sebepten, su ve sucul sistemlerden izole edilen bakterilerin antibiyotik

direnç ve hassasiyet mekanizması hakkında oldukça fazla çalışma bulunmaktadır (Öztürk & Altınok, 2014).

Dünya çapında antibiyotik direnç profilleri su, sucul canlılar ve sedimentteki bakteriler için, özellikle yerleşim alanlarına yakın bölgelerde oldukça yaygın olarak rapor edilmesine rağmen (DePaola vd., 1995; Chelossi vd., 2003); normalde karasal sistemlerde kullanılan antibiyotik miktarının sucul sistemlerden çok daha fazla olduğu bilinmektedir (Giraud vd., 2006). Dolayısıyla bu tarz çalışmalarda insan patojeni olan türlere öncelikle rastlanmaktadır. Bir çok sistemde fekal kirliliğin göstergesi olarak kabul edilen *Escherichia coli*, diğer çalışmalarla beraber antibiyotik dirençlilik çalışmalarında da oldukça sık tercih edilmektedir (Efstratiou vd., 2018). Bununla beraber, balık patojenleri ve su ürünleri işletmelerinin çevresinden izole edilen bakteriler ile ilgili çalışmalar sürekli artmaktadır. Bu bağlamda, yine *Escherichia coli*'nin kara midyesi (*Mytilus galloprovincialis*) ve deniz salyangozlarından (*Rapana venosa*) izole edilip, antimikrobiyal direnç profillerinin ortaya konulduğu bir çalışma yapılmış ve sulfametoksazola karşı %83 oranında yüksek bir direnç kaydedilmiş, en düşük dirençlilik ise florfenikole karşı (%1,9) tespit edilmiştir (Terzi, 2018a). Bir başka çalışmada da yetiştiriciliği yapılan mersin balıklarından (*Acipenser gueldenstaedti*, *A. baeri*) izole edilen 37 farklı suş üzerinde yapılan antimikrobiyal direnç taramalarında, en yüksek direncin sulfametoksazol ve ampiciline (%97,3) karşı olduğu rapor edilmiştir (Terzi, 2018b). Bir diğer çalışmada ise Çapkın vd., (2017) Doğu Karadeniz Bölgesi'nde alabalık yetiştiricilik faaliyetleri yapan 30 farklı işletmeden izole edilen 43 farklı suş ihtiva eden 133 bakterinin antibiyotik direnci ile ilgili çalışmışlardır. Bu çalışmada *Aeromonas*, *Vibrio* ve *Pseudomonas* cinslerine ait altışar farklı türden bu türlere ait toplam 64 bakterinin yer aldığı belirtilmiştir. Bakteri cinsi düzeyinde yapılan bir diğer çalışma ise, *Aeromonas* cinsine ait bakteriler ile Türkiye sınırları içerisinde, geniş çaplı olarak (Akdeniz, Karadeniz ve Ege Bölgeleri) yapılan, antimikrobiyal duyarlılık çalışmasıdır (Onuk vd., 2017). Çalışmada 45 *Aeromonas* izolatıyla (*A. sobria*, *A. hydrophila*, *A. salmonicida*, *A. bestiarum* ve *A. veroni*) çalışılmış ve gentamisin bütün izolatların duyarlı olduğu antibiyotik olarak kaydedilmiştir.

Yukarıda özetlenen konu bağlamında sunulan bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesi'nde farklı iki sucul alandan örneklenen balıklardan izole edilen bakterilerin antimikrobiyal direnç profillerini karşılaştırmak amaçlanmıştır. Yapılan bu çalışmayla, tüm sistemin birikim yeri olan deniz ve herhangi bir su ürünleri yetiştiriciliği yapılmayan tatlı su sistemi olan iki farklı sucul sistem bakterileri arasındaki antibiyotik direnç profillerinin farklılığının ortaya konulması hedeflenmiştir.

## MATERYAL VE METOT

Çalışmada kullanılan toplam 47 adet bakteri, Doğu Karadeniz'deki Rize ve Artvin illerinden örneklenmiş balıklardan ve karideden daha önce izole edilmiştir. Örneklenen balıklar hem yetiştiriciliği yapılan hem de doğal olan türlerdir. Rize'deki örneklerin tamamı denizel ortamda yaşayan balıklardan 2012-2018 yılları arasında izole edilen bakterilerdir (Tablo 1). Artvin ili Deriner Barajı örneklerini oluşturan diğer bakteriler ise yine daha önce Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2015'te desteklenen projeden elde edilen (Proje no: 2014.103.02.04) ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Laboratuvarı'nda  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de stoklanmış izolatlardır. Deriner Baraj Gölü'nden izole edilen bakteriler ile ilgili detaylar Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Rize ili deniz ortamından izole edilen bakteriler ve izole edildikleri balık türleri. n: sayı, (\*): doğal tür.

**Table 1.** Bacteria isolated from the marine environment of Rize and the fish species from they have been isolated. n: number, (\*): native species.

Balık Türü	Bakteri	n
Denizati ( <i>Hippocampus guttulatus</i> )*	<i>Vibrio</i> sp.	1
Mezgit ( <i>Merlangius merlangus</i> ) *	<i>Vibrio alginolyticus</i>	1
Levrek ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	<i>Pseudomonas</i> sp.	1
Levrek ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1
Levrek ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )	<i>Vibrio</i> sp.	2
İstavrit ( <i>Trachurus mediterraneus</i> ) *	<i>Aeromonas</i> sp.	2
İstavrit ( <i>Trachurus mediterraneus</i> ) *	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	1
İstavrit ( <i>Trachurus mediterraneus</i> ) *	<i>Brevibacterium</i> sp.	1
Palamut ( <i>Sarda sarda</i> ) *	<i>Aeromonas</i> sp.	2
Gökkuşuğu Alabalığı ( <i>Oncorhynchus mykiss</i> )	<i>Vibrio anguillarum</i>	1
Karides ( <i>Philocheirus trispinosus</i> ) *	<i>Pseudomonas</i> sp.	2
		15

**Tablo 2.** Deriner Baraj Gölü'ndeki doğal balıklardan izole edilen bakteriler.

**Table 2.** Bacteria which isolated from native fishes of Deriner Dam Lake.

Balık türleri	Bakteri	n
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1
	<i>Aeromonas</i> sp.	7
	<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	4
	<i>Aeromonas caviae</i>	1
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	4
<i>Aphanius fesciatus</i>	<i>Aeromonas media</i>	1
<i>Barbus artvinica</i>	<i>Aeromonas salmonicida</i>	3
<i>Capoeta banarescui</i>	<i>Citrobacter</i> sp.	2
<i>Capoeta ekmekeciae</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.	2
<i>Capoeta sieboldii</i>	<i>Pseudomonas fluorecens</i>	1
<i>Squalius orientalis</i>	<i>Pseudomonas jessenii</i>	1
	<i>Rahnella</i> sp.	1
	<i>Shewanella</i> sp.	1
	<i>Shewanella putrefaciens</i>	3
		32

Bakterilerin ilk çoğaltılmasında triptik soy agar (TSA) besi yeri kullanılmıştır (Lasee, 1995). Denizel izolatlar için ise %1,5 NaCl (tuz) ilaveli TSA (T-TSA) besiyeri kullanılmıştır. Antibiyogram testleri için ise Mueller Hinton Agar (MHA) besiyeri kullanılmış yine denizel izolatlar için besiyerine NaCl ilavesi yapılmıştır.

Çalışmada antimikrobiyal hassasiyet testleri için, Ampisilin (AM10 $\mu\text{g}$ ), Gentamisin (CN10 $\mu\text{g}$ ), Oksitetrasiklin (T30 $\mu\text{g}$ ), Amoksisilin-Klavulanik Asit (AMC10 $\mu\text{g}$ ), Enrofloksasin (ENR5 $\mu\text{g}$ ), Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT25 $\mu\text{g}$ ), Florfenikol (FFC30 $\mu\text{g}$ ), Sulfametoksazol (SMZ25 $\mu\text{g}$ ) ve Eritromisin (E15 $\mu\text{g}$ ) antibiyotik diskleri (Bioanalyse, Ankara) kullanılmıştır. Antibiyotik diskleri bakterilerin inoküle

edildiği besiyeri üzerine aseptik olarak yerleştirilmiştir. Besiyeri plakları  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta 18-36 saat inkübe edilmiştir. Oluşan zon çapları CLSI (2018) yönergesine göre dirençli (D), hassas (H) ve orta (O) olarak kaydedilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** Antibiyogram testi duyarlılık değerleri (CLSI, 2018).

**Table 3.** The sensitivity values of antibiogram test (CLSI, 2018).

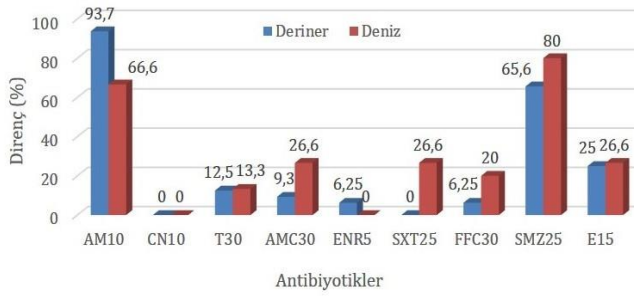
Antimikrobiyal madde	Duyarlılık Zon Değerleri (mm)		
	Dirençli (D)	Hassas (H)	Orta (O)
Ampisilin (AM10 $\mu\text{g}$ )	$\leq 13$	$\geq 17$	14-16
Gentamisin (CN10 $\mu\text{g}$ )	$\leq 12$	$\geq 15$	13-14
Oksitetrasiklin (T30 $\mu\text{g}$ )	$\leq 14$	$\geq 19$	15-18
Amoksisilin-Klavulanik Asit (AMC10 $\mu\text{g}$ )	$\leq 13$	$\geq 18$	14-17
Enrofloksasin (ENR5 $\mu\text{g}$ )	$\leq 16$	$\geq 21$	17-20
Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT25 $\mu\text{g}$ )	$\leq 10$	$\geq 16$	11-15
Florfenikol (FFC30 $\mu\text{g}$ )	$\leq 14$	$\geq 19$	15-18
Sulfametoksazol (SMZ25 $\mu\text{g}$ )	$\leq 12$	$\geq 17$	13-16
Eritromisin (E15 $\mu\text{g}$ )	$\leq 13$	$\geq 23$	14-22

Çoğul antibiyotik direnç indeksleri (MAR), izolatanın dirençli olduğu antibiyotik sayısının kullanılan tüm antibiyotiklere oranı şeklinde bir hesaplama yapılarak, tüm izolatlar için ve izole edildikleri sucul sistemlere göre ayrı ayrı hesaplanmıştır (Krumperman, 1983). MAR indeksinin  $\geq 0,2$  olması, ortamın insan ya da hayvan kaynaklı antibiyotiklere yoğun miktarda maruz kalmasını ifade etmektedir. İlaveten, bu çalışmada, cins düzeyinde bir kıyaslama için *Aeromonas* ve *Pseudomonas* cinsi bakterilerin sucul ortam farklılığı da gözetilerek direnç yüzdelikleri incelenmiştir.

## BULGULAR

Çalışmada kullanılan bakterilerin tüm izolatlara ait antibiyotik direnç profilleri Şekil 1'de verilmiştir. Tüm bakteriler gentamisin antibiyotikine karşı %100 hassasiyet gösterirken, en yüksek direnç ampisilin ve sulfametoksazol antibiyotiklerine karşı tespit edilmiştir. Sucul sistem farklılığı olan bakteri gruplarının uygulanan antibiyotiklere karşı direnç yüzdeleri genellikle benzer olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, Amoksisilin-Klavulanik Asit, Trimetoprim/Sulfametoksazol ve Florfenikol antibiyotiklerinde farklılıklar belirlenmiştir. Bahsi geçen bu antibiyotiklerde denizel izolatların direnç yüzdelerinin yüksek olması dikkat çekmiştir. Bu durumun tersi olarak ampisilin antibiyotikine karşı tatlı su ortamında yaşayan balıklardan elde edilen izolatlar daha yüksek direnç göstermiştir.

Deriner Baraj Gölü'nden izole edilen bakterilerin MAR indekslerine bakıldığında, tüm izolatlar içerisinde (32) sadece 8 izolatanın MAR indeksi  $\leq 0,2$  olarak belirlenmiştir. Bu izolatların MAR indeksi ortalaması 0,24 olarak hesaplanmıştır. Denizel izolatlarda ise (15), MAR indeksi 5 izolat için  $\leq 0,2$  olarak belirlenmiştir. Bu izolatlarda ise MAR indeksi ortalaması 0,31 olarak hesaplanmıştır. Burada da yine denizel kökenli izolatların MAR indeksinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. Denizel ve tatlı su kaynaklı bakterilerin antibiyotik direnç yüzdeleri.

Figure 1. Antibiotic resistance percentages of marine and freshwater bacteria.

Çalışmada *Aeromonas* cinsine ait bakterilerin direnç yüzdeleri Tablo 4'te verilmiştir. Bu verilere göre, *Aeromonas* cinsine ait bakterilerin tamamının kullanılan 9

antibiyotik içerisinde 4 antibiyotiğe (Gentamisin, Enrofloksasin, Trimetoprim/Sulfametoksazol ve Florfenikol) karşı hiç direnç göstermediği belirlenmiştir. Denizel izolatlar için ise sadece 2 antibiyotikte (Sulfametoksazol ve Ampisilin) direnç belirlenmiştir. Bahsi geçen bu iki antibiyotik, her iki sucul sistem bakterilerinde de en yüksek direncin gözlemlendiği antibiyotik olmuştur.

*Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin direnç yüzdeleri Tablo 5'te verilmiştir. Bu verilere göre, *Pseudomonas* cinsine ait bakterilerin tamamının kullanılan 9 antibiyotik içerisinde sadece gentamisine karşı hiç direnç göstermediği belirlenmiştir. Bu grup içerisinde denizel kökenli izolatların eritromisine %100 direnç gösterirken, tatlı su kökenli izolatların aynı antibiyotik için tamamının hassas olması dikkat çekmiştir.

Table 4. Denizel ve tatlı su kökenli *Aeromonas* cinsi bakterilerin antibiyotik direnç yüzdeleri.

Table 4. Antibiotic resistance percentages of marine and freshwater *Aeromonas* bacteria.

Antimikrobiyal Madde	Tatlı su			Deniz		
	n	Dirençli	%	n	Dirençli	%
Ampisilin (AM10µg)	20	20	100	4	2	50
Gentamisin (CN10µg)	20	0	0	4	0	0
Oksitetrasiklin (T30µg)	20	3	15	4	0	0
Amoksisilin-Klavulanik Asit (AMC10µg)*	20	1	5	4	0	0
Enrofloksasin (ENR5µg)	20	0	0	4	0	0
Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT-25µg)	20	0	0	4	0	0
Florfenikol (FFC-30µg)	20	0	0	4	0	0
Sulfametoksazol (SMZ25µg)	20	14	70	4	4	100
Eritromisin (E15µg)	20	7	35	4	0	0

Table 5. Denizel ve tatlı su kökenli *Pseudomonas* cinsi bakterilerin antibiyotik direnç yüzdeleri.

Table 5. Antibiotic resistance percentages of marine and freshwater *Pseudomonas* bacteria.

Antimikrobiyal Madde	Tatlı su			Deniz		
	n	Dirençli	%	n	Dirençli	%
Ampisilin (AM10µg)	4	4	100	3	3	100
Gentamisin (CN10µg)	4	0	0	3	0	0
Oksitetrasiklin (T30µg)	4	1	25	3	1	33,3
Amoksisilin-Klavulanik Asit (AMC10µg)*	4	1	25	3	3	100
Enrofloksasin (ENR5µg)	4	1	25	3	0	0
Trimetoprim/Sulfametoksazol (SXT-25µg)	4	0	0	3	2	66,6
Florfenikol (FFC-30µg)	4	1	25	3	2	66,6
Sulfametoksazol (SMZ25µg)	4	3	75	3	2	66,6
Eritromisin (E15µg)	4	0	0	3	3	100

## TARTIŞMA

Farklı sucul sistemlerden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere karşı farklı direnç göstermeleri olağan bir durumdur. Bu direncin oluşmasında hem karasal canlıların antibiyotik kullanımı, hem de su ürünleri yetiştiricilik faaliyetlerinde kullanılan antibiyotikler etkilidir. Ekosistemlerde sucul sistemler, sadece kendi içinde yer alan kirletici unsurların dışında, içerisinde bulunduğu havzanın tüm unsurlarından etkilenen son rezervler olarak geçmektedir. Özellikle denizler ve durgun su sınıfına giren göller, yer üstü ve yer altı havzaların tüm kirlilik etkenlerini taşımasıyla önemli derecede birikimi olan sucul sistemlerdir (Kayhan & Yön, 2014). Yapılan bu çalışmada, izole edilen bakterilerin bulunduğu sucul sistemler için, kirlilik birikim merkezi olan denizel ortam (Rize sahil

kesimi) ve baraj gölü (Deriner Baraj Gölü) tercih edilmiştir.

Bu çalışmada Deriner Barajı'ndaki doğal balık türlerinden izole edilen bakterilerin antibiyotiklere gösterdiği direnç birkaç antibiyotik için değişse de, genele bakıldığında denizel kökenli bakteri izolatları ile paralellik arz etmiştir. Örneğin Amoksisilin-Klavulanik Asit, Trimetoprim/Sulfametoksazol ve Florfenikol gibi antibiyotiklere karşı, denizel izolatlar daha fazla direnç gösterse de genel tablo direnç seviyelerinin birbirine paralel olduğunu göstermektedir. Ayrıca, çoğul antibiyotik indeksinin (MAR) her iki sistemde de  $\geq 0,2$  olması, iki sistemin de antibiyotiklere yoğun olarak maruz kaldığına işaret etmektedir. Yine de denizel örneklerden elde edilen izolatlarda MAR indeksinin yüksek olması ve antibiyotiklere karşı direnç seviyelerinin yüksekliği son

birikimin denizel ortam olmasıyla izah edilebilir. Ancak, su ürünleri yetiştiricilik faaliyetlerinin olmadığı Deriner Baraj Gölü'nün de kendi havzasından etkilendiği gerçeği bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Deriner Barajı'nda, balık patojeni bakterilere karşı kullanılan antibiyotiklerin direnç yüzdesinin sıfıra yakın ya da oldukça düşük olması, buna karşın insanlarda yaygın olarak kullanılan penisilin grubundaki geniş spektrumlu ampisiline karşı izolatlarda çok yüksek bir direnç olması, karasal kontaminasyonu destekler nitelikte bir bulgu olmuştur.

İzolatlar arasında en fazla izole edilen *Aeromonas* cinsinde ise antibiyotik direnç yüzdeleri değerlendirildiğinde, *Aeromonas* suşlarının ampisiline yüksek bir direnç gösterdiği belirlenmiştir. Bu direnç *Aeromonas*'ların ampisiline doğal bir direnci olması ile açıklanabilir (Richardson vd., 1982). Ancak tatlı su kökenli izolatlarda bu direnç %100 iken, denizel izolatlarda ise direnç %50 olarak belirlenmiştir. Onuk vd., (2017), yaptıkları çalışmada balık ve su kökenli *Aeromonas*'lara uygulanan oksitetrasiklin direncini %37,8 olarak rapor etmişlerdir. Bu çalışmada balık kökenli *Aeromonas* cinsi bakterilerin oksitetrasiklin direnci %15 olarak kaydedilmiştir. Denizel kökenli izolatlarda ise dirence rastlanmamıştır. Çalışmadaki *Aeromonas* suşlarının enrofloksasin, florfenikol, amoksisilin-klavulanik asit ve trimetoprim/sulfametoksazol gibi antibiyotiklere karşı direncinin olması bölgede su ürünleri yetiştiriciliği açısından olumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir.

Makrolit grubu olan eritromisin hidrofobik yapısından dolayı, Enterobacteriaceae ailesi üyeleri olan *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* cinsinin üyeleri gibi çoğu gram negatif bakterinin hücre duvarından geçemediği yapılan bazı çalışmalarda bildirilmiştir (Zhanel vd., 2001; Tünger vd., 2008). Ancak gerçekleştirilen bu çalışmada ilginç olan detay ise, denizel kökenli *Pseudomonas* cinsi örneklerde bu direnç bahsi geçen bilgiyi doğrularken, tatlı su kökenli örneklerde ise tüm izolatlarda direnç olmamasıdır. Bu durum literatür bilgisi ile çelişmektedir.

Penisilin grubu antibiyotiklerin içerisinde yer alan aminopenisilinler diğer penisilin türlerine nazaran Gram negatif bakterilerde etkinliği daha fazla olan grubu temsil etmektedir. Ancak son yıllarda bu grup antibiyotiklere karşı da bakteriyel direncin olduğu ile ilgili literatür bilgilerine rastlanmaktadır (Ayaz, 2017). Bu durum çalışmanın bulguları ile eşleşmektedir. Buna rağmen, aynı grupta yer alan amoksisiline karşı bu direnç çok daha düşük bulunmuştur. Bu durum amoksisilin (AMC10µg)'in aynı zamanda klavulanik asit ile desteklenmiş olmasından kaynaklanabilir. Çünkü, özellikle klavulanik asit kombinasyonu ile bu antibiyotik, beta laktamaz enzimi salgılayabilme ihtimali olan bakterilerin bu enzimi salgılamasını engellenmekte ve direnç kırılmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Akkan, T. & Topkaraoğlu, T. (2019).** Tatlısu kaynaklarımızdaki *Escherichia coli* izolatlarının antibiyotik direnç düzeylerinin belirlenmesi: Batlama Deresi Örneği, Giresun. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **4**(3), 539-544.
- Akşit, A. (2016).** Antibacterial resistance in the fish farming and its importance, *Türkiye Klinikleri J Vet Sci Pharmacol Toxicol-Special Topics*, **2**(1), 47-54.
- Austin, B. & Austin, D.A. (2007).** *Bacterial fish pathogens: diseases of farmed and wild fish*, 4rd ed., Springer Publishing, New York, USA.
- Ayaz, C. (2017).** Penisilinler, Türkiye Klinikleri enfeksiyon hastalıkları-özel konular. *Antibiyotikler Güncel Durum Özel Sayısı*, **10**(1), 39-42.
- Balta, F., Dengiz Balta, Z., Özgümüş O.B. & Çağırğan, H. (2016).** The antimicrobial resistance and investigation of *Yersinia ruckeri* from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the Eastern Black Sea Region. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **1**(3), 72-76.
- Çapkın, E., Ozdemir, S., Ozturk, R.C. & Altınok, I. (2017).** Determination and transferability of plasmid-mediated antibiotic resistance genes of the bacteria isolated from rainbow trout. *Aquaculture Research*, **48**(11), 5561-5575.
- Caruso, G. (2016).** Antibiotic resistance in fish farming environments: A global concern. *Journal of Fisheries Sciences*, **10**(4), 9-13.
- Chelossi, E., Vezzulli, L., Milano, A., Branzoni, M., Fabiano, M., Riccardi, G. & Banat, I.M. (2003).** Antibiotic resistance of benthic bacteria in fish-farms and control sediments of the Western Mediterranean. *Aquaculture*, **219**, 83-97.
- CLSI. (2018).** *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically*. Clinical and Laboratory Standart Institute. Wayne, PA, USA, 112p.
- DePaola, A., Peeler, J.T. & Rodrick, G.E. (1995).** Effect of oxytetracycline-medicated feed on antibiotic resistance of gram-negative bacteria in catfish ponds. *Applied of Enviromental Microbiology*, **61**, 2335-2340.
- Efstratiou, M.A., Bountouni, M. & Kefalas, E. (2018).** Spread of antibiotic resistance in aquatic environments: *E. coli* as a case study. *Proceedings*, **2**, 693. DOI: [10.3390/proceedings2110693](https://doi.org/10.3390/proceedings2110693)
- Giraud, E., Douet, D.G., Bris, H.L., Bouju-Albert, A., Donnay-Moreno, C., Thorin, C. & Pouliquen, H. (2006).** Survey of antibiotic resistance in an

- integrated marine aquaculture system under oxolinic acid treatment. *FEMS Microbiology Ecology*, **55**(3), 439-448.
- Gülay, Z. (2017)**. Antibacterials and their mechanism of action at the bacterial cell. *Türkiye Klinikleri Journal of Infectious Diseases-Special Topics*, **10**(1), 6-19.
- Kacar, Z. & Balta, F. (2017)**. Multi locus sequence analysis (MLSA)-based identification of *Pseudomonas* spp. isolated from rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) in the eastern black sea region of Turkey using. *Fresenius Environmental Bulletin*, **26**(12), 7506-7512.
- Kayhan, F.E. & Yön, N.D. (2014)**. Sucul organizmalarda çevresel şartlara karşı geliştirilen oksidatif stres mekanizmaları ve adaptif yanıtlar. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, **4**, 137-151.
- Kayış, Ş. (2019)**. Analysis of fish health status in terms of sustainability of aquaculture in Turkey - A swot analysis. *Aquaculture Studies*, **19**(1), 69-76. DOI: [10.4194/2618-6381-v19\\_1\\_07](https://doi.org/10.4194/2618-6381-v19_1_07)
- Krumperman, P.H. (1983)**. Multiple antibiotic resistance indexing of *Escherichia coli* to identify high risk sources of fecal contamination of foods. *Applied and Environmental Microbiology*, **46**(1), 165-170.
- Lasee, B.A. (1995)**. *Introduction to fish health management*. U.S. Fish and Wildlife Service La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 54650, 92p.
- Onuk, E.E., Tanrıverdi Çaycı, Y., Çoban, A.Y., Çiftçi, A., Balta, F. & Didinen, B.I. (2017)**. Balık ve yetiştirme suyu kökenli *Aeromonas* izolatlarının antimikrobiyal duyarlılıklarının saptanması. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, **64**, 69-73.
- Öztürk, R.Ç. & Altınok, İ. (2014)**. Bacterial and viral fish diseases in Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **14**, 275-297.
- Richardson, C.J.L., Robinson, J.O., Wagener, L.B. & Burke V. (1982)**. In vitro susceptibility of *Aeromonas* spp. to antimicrobial agents. *J Clin Microbiol*, **9**, 267-74.
- Sekkin, S. & Kum, C. (2011)**. Antibacterial drugs in fish farms: in application and its effects, In: Aral, F. & Z. Doğu (Ed), *Recent Advances in Fish Farms*, 217-250p, InTech - Open Access Publisher, Rijeka.
- Selçuk, E.B. (2011)**. Aşıların tarihçesi. *Türkiye Klinikleri Aile Hekimliği- Özel Konular*, **2**(5), 1-4.
- Terzi, E. (2018a)**. Antimicrobial resistance profiles and tetracycline resistance genes of *Escherichia coli* in Mediterranean mussel and sea snails collected from the Eastern Black Sea (Turkey). *Alınleri Journal of Agriculture Sciences*, **33**(1), 43-49. DOI: [10.28955/alinterizbd.355019](https://doi.org/10.28955/alinterizbd.355019)
- Terzi, E. (2018b)**. Yetiştiriciliği yapılan mersin balıklarından izole edilen bakterilerin antimikrobiyal direnç profillerinin belirlenmesi. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **4**(2), 7-13.
- Tünger, Ö. (2008)**. Makrolitler, ketolitler, linkozamitler, In: Topçu A.W., Söyletir G. & Doğanay, M. (Ed), *Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi: Sistemlere Göre Enfeksiyonlar*, 4. Baskı, 2384s, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Zhanel, G.G., Dueck, M., Hoban, D.J., Vercaigne, L.M., Embil, J.M. & Gin, A.S. (2001)**. Review of macrolides and ketolides: focus on respiratory tract infections. *Drugs*, **61**, 443-98.



## The evaluation of Avian Influenza and Coronavirus as Pathogenic Enveloped Viruses for Possible Health Risk in Seafood: A Review

Bahar TOKUR\* Koray KORKMAZ

ODU Fatsa Faculty of Marine Sciences, Fishing Tech. Eng. Department, Fatsa / Ordu, Turkey

Received: 25 Eylül 2020

Accepted: 22 Ocak 2021

Published: 31 Mart 2021

*How to cite:* Tokur, B. & Korkmaz, K. (2021). The evaluation of Avian Influenza and Coronavirus as Pathogenic Enveloped Viruses for Possible Health Risk in Seafood: A Review. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 31-42.

Atıf yapmak için: Tokur, B. & Korkmaz, K. (2021). Su Ürünlerinde Patojenik Zarflı Virüsler Olarak Avian Influenza ve Koronavirüsün Olası Sağlık Riski Bakımından Değerlendirilmesi: Derleme. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 31-42.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0002-7087-5801>  
ID: <https://orcid.org/0000-0003-2940-6592>

**\*Corresponding author's:**

Bahar TOKUR  
ODU Fatsa Faculty of Marine Sciences,  
Fishing Tech. Eng. Department,  
Fatsa / Ordu, Turkey.  
✉: [bahartokur@odu.edu.tr](mailto:bahartokur@odu.edu.tr)

**Abstract:** Human pathogenic viruses in seafood are a significant and emerging problem for public health, food safety, and socio-economic implications worldwide. They may exist in any form of untreated water due to pollution induced by fecal content of human or animal origin, directly infected through interaction with body secretions and fluids containing contagious viral particles, or indirectly by aerosols or other polluted fomites. Thus, human pathogenic viruses can cause infection anytime by transmitting them from water and food environments to seafood and its products. Nowadays, people go through an unprecedented, huge challenge and global health disaster around the world because of the severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2) outbreak. Non-enveloped viruses are commonly known to have more stable and can survive much longer than viruses with an envelope tag. However, some studies show that some enveloped viruses such as avian influenza can be accumulated by seafood and can survive at low temperature for a long time. Low temperature preservation of seafood during processing, storage, transfer, distribution and display in retail stores are common methods to prevent the loss of quality and survival of the SARS-CoV-2 may be enough time to have all transmission routes at these low temperatures like other viruses. However, there have been no cases of COVID-19 infection identified through either water-borne or food-borne transmission since the beginning of the pandemic (almost a year). It seems that the main way of virus transmission is mostly person to person through respiratory droplets. So, it is thought to be that the risk of getting COVID-19 from seafood is very low and it can safely consume with proper cooking and hygiene protocol.

**Keywords:** Avian influenza, coronavirus, health risk, seafood.

## Su Ürünlerinde Patojenik Zarflı Virüsler Olarak Avian Influenza ve Koronavirüsün Olası Sağlık Riski Bakımından Değerlendirilmesi: Derleme

**\*Sorumlu yazar:**

Bahar TOKUR  
ODU Fatsa Deniz Bilimleri Fak.  
Balıkçılık Tekn. Müh. Bölümü,  
Fatsa/ORDU TÜRKİYE  
✉: [bahartokur@odu.edu.tr](mailto:bahartokur@odu.edu.tr)

**Öz:** Su ürünlerinde patojenik virüsler, dünyada gıda güvenliği, halk sağlığı ve sosyo-ekonomik etkiler bakımından önemli bir sorundur. Bu virüsler, insan veya hayvan kaynaklı dışkı içeriğinin neden olduğu herhangi bir arıtılmamış su kaynağında, doğrudan bulaşıcı viral partiküller içeren vücut salgıları ve sıvılarıyla veya dolaylı olarak aerosoller veya diğer kirli materyallerle enfekte olan bulaşma nedeniyle bulunabilirler. Böylelikle insan patojenik virüsleri, her an su ve gıda alanlarından su ürünlerine bulaşarak enfeksiyona neden olabilirler. Günümüzde insanlar, şiddetli akut solunum sendromu- koronavirüs-2 (SARS-CoV-2) salgını nedeniyle tüm dünyada benzeri görülmemiş, büyük bir zorluk ve felaket yaşamaktadır. Genellikle, zarfsız virüslerin daha kararlı olduğu ve zarflı virüslerden çok daha uzun süre hayatta kalabileceği bilinmektedir. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda kuş gribi gibi zarflı virüslerin deniz mahsullerinde birikebildiği ve düşük sıcaklıklarda daha stabil olduğu gösterilmiştir. Su ürünlerinin işlenmesi, depolanması, aktarılması, dağıtılması ve perakende mağazalarında sergilenmesi sırasında düşük sıcaklıkta korunması kalite kaybını önlemek için kullanılan yaygın bir yöntemdir ve SARS-CoV-2 düşük sıcaklıklarda tüm bulaşma yollarıyla hayatta kalabilmek için yeterli zamana sahip olabilir. Bununla birlikte, salgın başladığından beri (yaklaşık bir yıl), su ya da gıda kaynaklı bulaş yoluyla belirlenen herhangi COVID-19 enfeksiyon vakası belirlenmemiştir. Virüsün yayılmasının ana yolunun çoğunlukla kişiden kişiye solunum damlacıkları yoluyla olduğu görülmektedir. Bu nedenle, COVID-19'u gıdalardan alma riskinin çok düşük olduğu ve su ürünlerinin uygun pişirme ve hijyen protokolleriyle güvenli bir şekilde tüketilebileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Koronavirüs, kuş gribi, sağlık riski, su ürünleri.

## INTRODUCTION

Seafood and water-related transmission may also be suspected of enhancing the spread and production of zoonotic respiratory viruses (e.g., influenza, severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-COV), severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-COV-2), Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus (MERS) and Nipah virus), facilitating the occurrence of zoonotic events with bushmeat (Ebola virus) handling (Liya et al., 2020; Ohimain, 2016; Qu et al., 2020; Wolfe et al., 2005). Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI) virus (H5N1) and SARS-CoV have been identified in the WHO study as having the possibility for spread from animals (WHO 2008). Avian influenza and coronavirus (SARS-COV and SARS-COV-2) as enveloped viruses are cause a significant and emerging food safety and public health problem and threat.

Coronaviruses (CoVs) have a diameter of 120–160 nm, non-segmented RNA genome between 26.4 and 31.7 kilobases, enveloped viruses with single-stranded and as the name implies "corona" (means crown), when seen under electron microscopy it has crowned like projections (Siddell, 1995). Within the envelope, there is the helical capsid composed of the RNA and genome nucleoprotein (Kampf et al., 2020; La Rosa et al., 2020b). The nonenveloped waterborne viruses such as adenoviruses, enteroviruses, coliphage, more commonly known for persistence and disinfection in water and wastewater, is different from the coronaviruses concerning the presences of having a lipid membrane and comparatively large ssRNA genome (Silverman & Boehm, 2020). *Coronavirinae* family is separated into four genera named as alpha-, beta-, gamma-and delta-coronavirus. Only alpha (HCoV-229E and HCoV-NL63) and beta coronaviruses (HCoV-HKU1, HCoV-OC43, MERS-CoV and SARS-CoV) are recognized to infect humans and animals related to respiratory and gastro-intestinal infections (Cui et al., 2019; La Rosa et al., 2020c; Sharma et al., 2020). In late 2019, SARS-COV-2 as beta-coronavirus has emerged and can lead to high mortality rates (Qu et al., 2020). This novel coronavirus (SARS-CoV-2) outbreak called as COVID-19 has been announced a global pandemic by the World Health Organization (WHO) on March 11, 2020 (Qu et al., 2020; Randazzo et al., 2020).

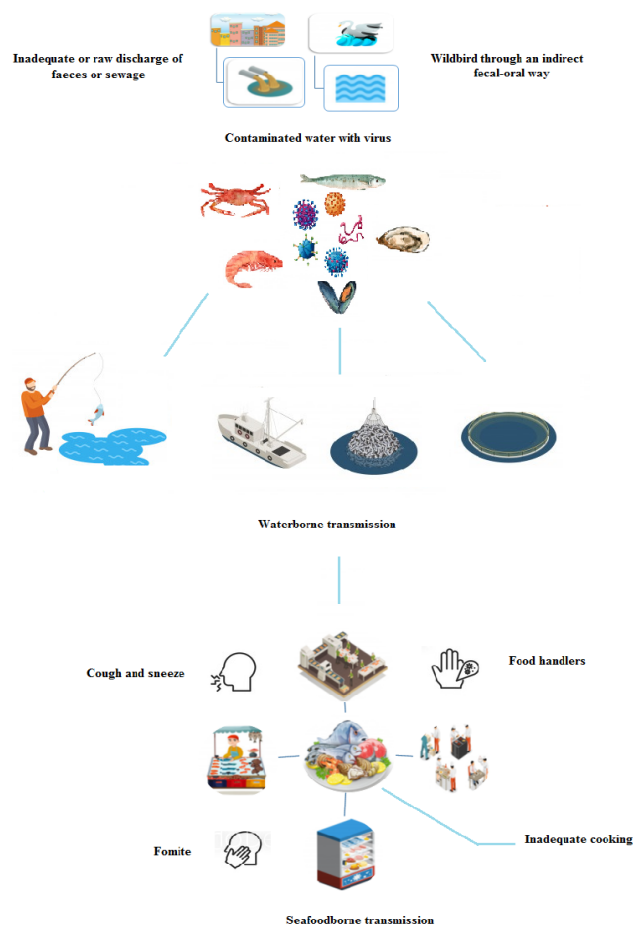
Influenza is an extremely infectious respiratory illness, with several years of local clusters, with rare epidemics or pandemics. In the "Spanish" influenza pandemic of 1918-1919, Influenza viruses killed an estimated 20 to 50 million people worldwide (Tumpey et al., 2005). For a variety of reasons, the worldwide effect may be much greater this time (Webster, 1994). The

influenza virus is common and can be seen in animals such as birds, horses, and pigs and also in humans, as sometimes cetaceans, dogs and mustelids can be infected from it as well. Generally, the natural hosts of certain avian influenza viruses are reservoirs in wild aquatic birds of the orders *Anseriformes* (e.g. ducks, geese, swans) and *Charadriiformes* (e.g. seagulls, terns, waders) (Hussain et al., 2016). Extremely pathogenic avian influenza (H5N1) has resulted in serious poultry and human illnesses. The Office International des Epizooties (OIE) and WHO recorded over 15,000 outbreaks of domestic birds from 2005 to 2018 and 861 human cases from 2003 to 2019 worldwide, respectively (Roy Chowdhury et al., 2019). Epidemics of avian influenza viruses from 68 countries were identified as of May 2019 (OIE, 2019).

This work will focus on the evaluation of avian influenza and coronavirus as human pathogenic enveloped viruses for possible health risks.

## POSSIBLE ROUTES OF TRANSMISSION

The routes of transmission of seafood associated human pathogenic enveloped viruses are shown in Figure 1.



**Figure 1.** Routes of transmission of seafood associated human pathogenic enveloped viruses.

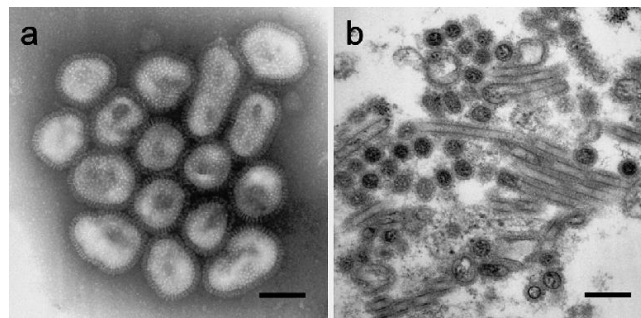


Viruses are stable in the environment and can be spread through air, water, food or by direct or indirect contact with contaminated body fluids. Viruses can enter the body through numerous sites containing either the respiratory and enteric tracts by aerosolized droplets and droplet nuclei, or the fecal-oral (Yezli & Otter, 2011). Over 140 types of pathogenic viruses can be transmitted from the aquatic environment (WHO, 1995). In the marine environment, all known seafood-borne pathogenic viruses caused an important public health hazard are transmitted via primarily the fecal-oral route, which regularly discharged to marine and estuarine waters either treated or untreated sewage (Griffin et al., 2003; Kovač et al., 2009) and urine, and respiratory secretions from the infected host which enter into sewage water (Wang et al., 2018). Various events such as floods, purified and untreated contaminated waste discharges or sewage flow can raise microbial contaminants in shellfish habitats. The bivalves are filter massive quantities of seawater and concentrate human pathogens (Bosch et al., 2005). Many species of seafood such as shrimps (Botero et al., 1996) or crabs (Goyal & Nelson, 1984) can carry viruses in their shells, and infected bivalves can be feeding by carnivorous shellfish such as lobsters or crabs, or fish (Hejkal & Gerba, 1981). In 2003, the WHO reported that the effect of waterborne infection of pathogens has caused 3.4 million deaths worldwide, while the EU reported that 13,548 children who were less than 14 die per year from these waterborne pathogens; nevertheless, it is impossible to measure the actual influence of viruses on all pathogens (Gibson, 2014).

Viral transmission can also occur through polluted seafood, due to insufficient hygienic activities by infected food handlers (Bosch et al., 2016; Koopmans, 2005; Seymour & Appleton, 2001; Shao et al., 2011; Todd & Grieg 2015), the aerosolized virus caused by infected persons (Koopmans & Duizer, 2004; La Rosa et al., 2020b; Qu et al., 2020) and their contamination sites within the human body like nervous system (Enterovirus, Nipah virus, Poliovirus, Parechovirus), respiratory system (HPAI-H5N1, SARS-CoV, Liver HAV, HEV), neural tissue and, and intestinal system (NoV, HRV, Sapovirus, Astrovirus, Adenovirus, Aichi virus) (WHO, 2008). The very first foodborne infection is a way to spread among the human population, which can then change and spread itself through person-to-person infection. Contaminated raw materials or fresh products are available from remote locations and can be used as ingredients in many types of food, thus raising the possibility for the spread of infection and the effects in the food industry (Bosch et al., 2018). Various the reported cases of foodborne virus disease have been related to infection of convenience, ready-to-serve food by a contaminated food handler, according to WHO reports (WHO, 2008).

## AVIAN INFLUENZA (A)

Influenza A viruses are members of the *Orthomyxoviridae* family of one-stranded, negative-sense enveloped RNA viruses (Figure 2). These are classified as 18 haemagglutinin and 11 subtypes of neuraminidase (NA) (Palese & Shaw, 2007). Electron microscopy of isolated influenza (H1N1) virus particles is shown in Figure 2.



**Figure 2.** Electron microscopy of isolated influenza (A/H1N1pdm) virus particles in the culture supernatant (a) and (b) in filamentous forms in the lung sections (Nakajima et al., 2010).

Human influenza viruses mainly reproduce in the respiratory tract, but avian variants predominantly exist in the bird gastrointestinal tract. This means that the viruses are excreted with a large number of feces in dense waterfowl populations. Consequently, water is considered to be an essential element in the natural transfer of avian influenza viruses among populations of wild birds through an indirect fecal-oral way involving fecal polluted water in shared aquatic habitats (Bosch, 2007; Brown et al., 2009; Grabow, 2007; Markwell, 1982; Nazir et al., 2011; Root, 2014; Sandu & Hinshaw, 1981). There are two major routes of AIV transmission: (i) a direct bird-to-bird transmission and (ii) a waterborne transmission. Researches have shown that waterborne transmission is an effective way of distributing and transmitting the avian influenza virus (Dovas et al., 2010; Roche et al., 2009; Thanapongtharm et al., 2013). This transfer process is highly effective since it persists in water for long periods within such temperature ranges (Brown et al., 2009; Domanska-Blicharz et al., 2010; Stallknecht et al., 1990; Webster et al., 1978). Studies have shown that the H5N1 and H9N2 viruses can live longer with appropriate water conditions, including pH, salinity, and cold, for up to several months (Brown et al., 2009; Liu et al., 2005; Zhang, 2014). Dublineau et al., (2011) observed that the pandemic influenza virus can survive infectious as a minimum of 200 days at 4°C in water.

The varied biotic water ecosystems, including fish and shellfish, are also susceptible to a variety of contaminants being discharged into the marine environments. Shellfish as filter feeders appear to

bioconcentrate the virus in the contaminated aquatic environments (Huyvaert et al., 2012) and serve as effective vessels for their spread (Lees, 2000; Skraber et al., 2005). Firstly, Scholtissek and Naylor, (1988) illustrated the expected function of combined culture by fish and ducks as fertilizer for fish farming systems in influenza pandemic transmission. Pathak et al., (2018) demonstrated that under laboratory conditions, bamboo shrimps (*Atyopsis moluccensis*), which are essential members of aquatic fauna for the reason that large fish, birds and humans eat them (Chace, 1983), may absorb the virus and stay infectious throughout the shrimp body. Huyvaert et al., (2012) has also reported that freshwater clams (*Corbicula fluminea*) can accumulate avian influenza and an important resource for early detection of H1N1 viruses in the marine environment. Eissa et al., (2012) documented that several aquatic species have a vital role in providing an intermediate path for the transmission, distribution, and dissemination of influenza viruses to and from susceptible marine and poultry populations with a two-year analysis in maritime and freshwater regions in Egypt from the neighborhood of natural migratory bird stop stations. They also detected avian influenza (H5N1) in Red Swamp Crayfish (*Procambarus clarkii*), Catfish (*Clarias gariepinus*), Puffer Fish (*Lagocephalus sceleratus*) and Mediterranean Cone Shell (*Conus mediterraneus*) in Egypt from the neighborhood of natural stopping stations for migratory birds. Densmore et al., (2019) is the first to confirm influenza A virus infection from a natural water source in clam and mussel tissue. Likewise, Stumpf et al., (2010) found that influenza A viruses were collected by zebra mussels (*D. polymorpha*) from topsoil, and that such viruses persist in the mussels for prolonged periods.

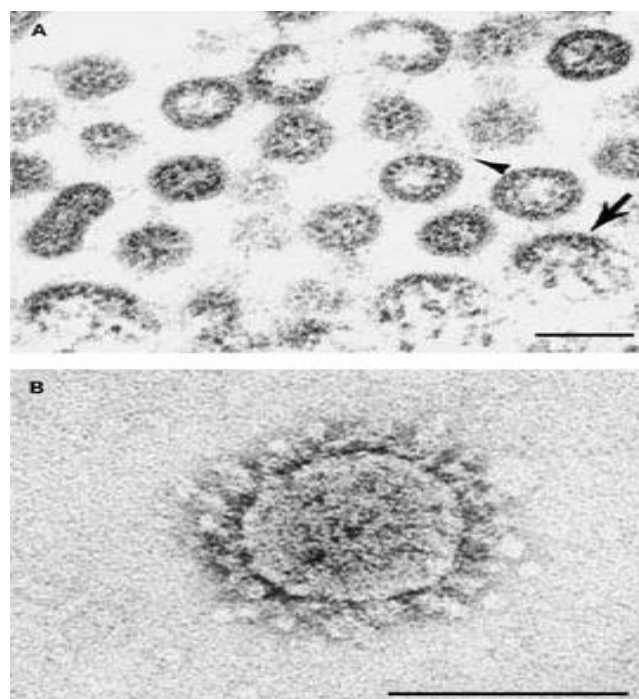
## CORONAVIRUSES

### *Severe acute respiratory syndrome (SARS-CoV):*

A serious acute respiratory syndrome (SARS-CoV), which occurred in 2781 cases with 111 deaths recorded on 10 April 2003 from 17 countries on 3 continents, is both an enteric and respiratory disorder (Nwachuku & Gerba, 2004). SARS-CoV was phylogenetically distinct from all human and animal coronaviruses previously recognized (Weber et al., 2016). Figure 3 shows the ultrastructural appearances of SARS-CoV developed in Vero e6 cells (Ksiazek et al., 2003).

Because the virus is excreted in respiratory secretions, the feces often excrete significant numbers; as many as 1,31107 viruses per gram of feces. Studies have demonstrated that SARS-CoV can survive in stool samples at room temperature for 4 days (Nwachuku & Gerba, 2004; Wang et al., 2005; Weber et al., 2016). Infected stools in wastewater may create additional spread routes by

creating virus-laden aerosols throughout wastewater flushing (Isakbaeva et al., 2004; Qu et al., 2020). Peiris et al., (2003) reported that epidemiological investigations of 321 patients who were associated with coronavirus- SARS outbreak in a high-rise residential estate in Hong Kong (March 24 in 2003) could be related to a defective sewage system. Several reports have recorded that coronavirus stays transmissible in water and wastewater for days to weeks (Casanova et al., 2009; McKinney et al., 2006; Nwachuku & Gerba, 2004). Scientists recorded that it took many days to reduce virus infectivity by 99% at room temperature, in liquid water or pasteurized settled sewage. SARS-CoV was observed at 20 °C for 2 days in hospital sewage, domestic wastewater and tap water and at 4 °C for up to 14 days (Pinon & Vialette, 2018), at least 17 days in fecal or urine (Wang et al., 2005), thereby demonstrating a clear temperature effect on viral persistence (La Rosa et al., 2020a; Leung et al., 2003). Two surrogate coronaviruses were tested by Casanova et al., (2009) and they noticed that this transmissible gastroenteritis (TGEV) and mouse hepatitis (MHV) viruses in pasteurized settled sewage stayed contagious for days to weeks. At 25 °C, it took 22 days for TGEV to minimize reagent-grade water by 99% and 17 days for MHV. The period for a 99 percent drop of pasteurized settled waste was 7 days for MHV, and 9 days for TGEV.



**Figure 3.** Ultrastructural Appearances Of SARS-CoV Developed In Vero E6 Cells (Ksiazek et al., 2003).

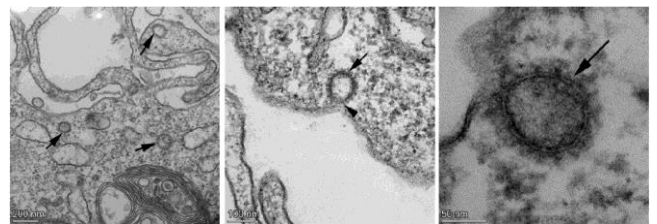
In marine environments, the rate of virus decay can be significantly affected by the viral genome and envelope properties; thus, coronaviruses are believed to have characteristics of survival and disinfection that vary

from smaller and non-enveloped viruses (Silverman & Boehm, 2020; Wigginton et al., 2015). Enveloped viruses are usually deemed inconsistent in aquatic life and thus have not been stressed in studies, procedures, or regulations on waterborne viruses. The waterborne infection has never been seen in humans, but identification of human coronavirus (HCoV) and SARS-CoV in the feces of infected patients was documented (Drosten et al., 2003; Esper et al., 2010; Vabret et al., 2006), indicating that the fecal-oral way can cause HCoV (La Rosa et al., 2020b) and SARS-CoV transmission. Nevertheless, certain enveloped viruses may live in soil and surface waters such as influenza A for long times. For example, certain coronaviruses are comparatively stable in aquatic life and can even spread to humans and cause serious outbreaks. The virus is similar to coronaviruses, which are known as part of the intestinal viral flora of a lot of people and were identified in the feces of patients and wastewater and were found to survive for a long time at low temperature (Leung et al., 2003; Wang et al., 2005; Ye et al., 2016). It was thought necessary to link waterborne infection with influenza virus, all of which have a typical envelope (Gundy et al., 2009; Peiris et al., 2003; Wigginton et al., 2015). However, there is a deficiency in the studies about waterborne transmission as with the avian influenza viruses. Consequently, the increased possibility of respiratory virus infections such as influenza and SARS especially in aquatic environments can not be overlooked for filter filtering shellfish and fish farming/catching in uncontrolled sewage and wastewater regions to protect human health against coronavirus through water (Todd & Grieg, 2015).

SARS-CoV, as well as monkeypox (Rimoin et al., 2010) and Nipah virus (Luby et al., 2009), can be transmitted via food-related occurrences, either by zoonotic food consumption or during food handlers and food production if the personal hygiene quality is poor (Bell et al., 2004; Bosch et al., 2016; Leung et al., 2006; Koopmans, 2012; Qu et al., 2020; Shao et al., 2011; Todd & Grieg, 2015). Mullis et al., (2012) studied the stability of coronaviruses on the lettuce surface by using BCoV as a surrogate of the Genus *Betacoronavirus*, which contains SARS-CoV, under household refrigeration conditions. They observed that lettuce BCoV maintained infectivity at 4°C for at least 14 days, and higher infectious particle amounts. They also saw that the coronavirus remained stable throughout the shelf-life of the lettuce, and caused a washing process (elution) to no longer eliminate the residual viruses. UV lights, thermal exposure ( $\geq 65^\circ\text{C}$ ), acidic pH (<3), or alkaline pH (>12) milieu could inactivate SARS-CoV (Darnell et al., 2004). It is suggested that SARS-CoV, even though it is mainly spread through droplets and direct contacts, should not be ignored for

potential environmental transmission via water, bioaerosols, and food (Annaloura et al., 2020).

**Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS CoV-2):** SARS-CoV-2 is an enveloped RNA virus single-stranded as a genetic material having the size of 29.9 kb with a particle size of 100-160 nm in diameter, the largest among all the RNA viruses (Zehra et al., 2020). It contains four structural proteins, titled the S (spike), E (envelope), M (membrane), and N (nucleocapsid) proteins and belongs to beta-coronavirus (Liya et al., 2020). Transmission electron microscopy images of SARS-CoV-2 grown in the Vero cell line are given in Figure 4 (Taştan et al., 2020).



**Figure 4.** Transmission electron microscopy images of SARS-CoV-2 grown in Vero cell line (Taştan et al., 2020).

SARS-CoV-2 is the main reason for the global pandemic of Severe Acute Respiratory Syndrome, resulting in infections and death of millions worldwide with high variability in cases and mortality. On 11 March 2020, the WHO stated that Covid-19 was a pandemic on the grounds of "threatening rates of spread and magnitude, and threatening rates of inaction" (Medema et al., 2020). As of that date, it has already spread to more than 219 countries in the world surpassing more than 2 million deaths and nearly 96 million reported active cases worldwide (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>).

**Water-borne Transmission:** SARS-CoV-2 is spread mainly by respiratory droplets from an infected individual to a susceptible host (Walker et al., 2020; Lai et al., 2020). At the present, various researchers have reported the infectious SARS-CoV-2 in the feces and urine of infected patients (Chen et al., 2020a; Elsamadony et al., 2021; Xiao et al., 2020 a,b). It is also reported by Wu et al., (2020a) who suggest that fecal-oral transmission could occur after viral clearance in the respiratory tract. Zheng et al., (2020) evaluated SARS-CoV-2 dynamics in China's Zhejiang province and they found the longer mean duration of SARS-CoV-2 in the stool samples (22 days, H-spread 17-31 days) than those in respiratory airways (18 days) and serum (16 days) samples. Several experiments in marine and drainage ecosystems around the world have observed signs of SARS-CoV-2 RNA (Ahmed et al., 2020; D'Aoust et al., 2021; Eslami & Jalili 2020; Lodder & de Roda Husman, 2020; Orive et al., 2020; Peccia et al., 2020; Wu et al., 2020b; Wurtzer et al., 2020). Randazzo et al., (2020) detected SARS-CoV-2 RNA in six wastewater

treatment plants in the main metropolises within the Province of Murcia (Spain), the lowest COVID-19 prevalence in the Iberian Peninsula. For the first time, Guerrero-Latorre et al., (2020) identified significant viral loads of SARS-CoV-2 from rivers in 180 urban streams of Quito, where insufficiently handled sewage discharges on June 5 during a COVID-19 season. They also reported that the amount usually removed (6-7 Log<sub>10</sub>) through the recycled water disinfection methods is much lower than viral particles shedding (up to 10 Log<sub>10</sub>) by infected people through sewage and greywater. Many researchers have been thought that these results showed an increased potential of contamination through the fecal-oral infection route from the water environment (Bhattacharjee, 2020; Chen et al., 2020b; Holshue et al., 2020; Medema et al., 2020; Oliver et al., 2020; Qu et al., 2020; Xiao et al., 2020a,b).

Water-borne human pathogenic viruses related to seafood are primarily spread via fecal-oral way due to feeding habits and their pre-harvest growing area, particularly where may contaminate the virus concerning the inadequate or raw discharge of feces or sewage in water bodies (Bosch et al., 2005; Butt et al., 2004; Gerba 2007; Grabow, 2007; Li et al., 2021). Although enveloped viruses were found to be degrading in water compared to nonenveloped viruses (Gundy et al., 2009; Lebarbenchon et al., 2011), studies have shown that seafood can accumulate enveloped viruses such as avian influenza (Densmore et al., 2019; Eissa et al., 2012; Huyvaert et al., 2012; Pathak et al., 2018). The structure of avian influenza, as well as the other enveloped viruses such as H1N1 "Spanish flu," SARS-CoV, MERS-CoV found in the stools and urine of infected human samples are similar to coronaviruses (Wigginton et al., 2015). Annalaura et al., (2020) detected the longer survival of SARS-CoV-2 *in vitro* experiments at low temperatures and they recommend that SARSCoV-2 excreted in feces may enter infectious wastewater treatment plants particularly in cool climates. Furthermore, the existence of fecally infected food is supposed to be a significant role in coronavirus transmission by scientists (Baduashvili et al., 2020; El Baz & Imzilin, 2020; Li et al., 2021; Mullis et al., 2012; Tian et al., 2020; Zhang et al., 2020). Although, these concerns, even if there are no cases of waterborne transmission via fecal-oral route, have thought to be the importance of the possible waterborne transmission via fecal-oral route for SARS-CoV-2 (Ghernaout & Ghernaout, 2020; Heller et al., 2020; Qu et al., 2020; Rizou et al., 2020; WHO, 2019; Yeo et al., 2020), the current existence of it in feces and urine of infected people and its accelerated dissemination requires new attention to detect it in aquatic environment with respect to the existence of the virus and its possible infectivity. However, the current evidence shows that the

possible water-borne transmission of SARS-CoV-2 may be very low.

**Food-borne Transmission:** SARS-CoV-2 can be transmitted as a widely agreed mode of transmission for respiratory diseases by either touching a polluted surface or object and consequently infecting itself through oral, nasal or optical routes eyes (BFR, 2020; Dawson, 2020; Lei et al., 2020; Pressman et al., 2020; Shahbaz et al., 2020) or intake of infected food (Dawson, 2020). According to WHO, SARS-CoV-2 can spread through hands, sneezing and coughing of infected workers responsible for the preparation and packaging of foods (WHO, 2020).

Previous studies have shown that coronavirus stability is mostly dependent on the ambient temperature (Ijaz et al., 1985; Mullis et al., 2012; Siddell et al., 1983; Tennant et al., 1994). In a study conducted as a surrogate of bovine coronavirus Genus *Betacoronavirus*, it was shown that it survived on lettuce for up to two days at environmental temperature and at least 14 days at 4°C (Mullis et al., 2012). Van Doremalen et al., (2014) found that MERS-CoV can live at various temperatures for long periods, when it is injected into dromedary camel milk, goat milk, and cow milk. Nipah virus has been experimentally transmitted by liquids, causing a respiratory tract infection rather than intestinal tract infection (de Wit et al., 2014).

A new study showed that SARS-CoV-2 could stay viable in the environment for up to 3 hours, on copper for up to 4 hours, on carton for up to 24 hours and on plastic and stainless steel for up to 72 hours (Van Doremalen et al., 2020). In fact, SARS-CoV-2 experiments have shown that the virus is extremely stable at 4°C and WHO (2020) suggests that it may stay infectious at -20°C for a long time (up to 2 years) The survival of SARS-CoV-2 in salmon meat at cold storage (+4°C) by using end-point titration assay on Vero E132 cells has been shown by Dai et al. (2020). They found that salmon-attached SARS-CoV-2 ability remained infectious for more 24 than one week at 4°C. According to their results, they suggested that because seafood should be transported for import and export with cold storage (e.g., 0 ~ 4°C), SARS-CoV-2 for international transmission can be easily carry-through contaminated seafood within one week. Pung et al., (2020) pointed out that a cluster of COVID-19 patients in Singapore shared food and social interaction in a conference was caused. Yekta et al., (2020) also reported that there is some evidence that the transmission of SARS-CoV-2 may be possible through meat products. Li et al. (2021) also suggest that CoVs as well as norovirus (NoVs) known to be the primary causative agent of seafood transmitted illness (Bachofen 2018; Li et al. 2014), may be transmitted especially at low temperatures due to having enough time for remaining infectious on foods and/or food packaging

materials. Similar suggestions have also been made by other researchers (Rizou et al., (2020) for frozen or cold stored foods.

Although no research studies have been conducted to examine the stability of SARS-CoV-2 on packaging under real-world conditions and through the supply chain, the findings of this study pose concerns that packaging may play an important role in helping to spread the virus, particularly at low temperatures (Boucher, 2020; Li et al., 2021). Consequently, as recommended by the WHO and regional health authorities, the Food Packaging Forum suggests that consumers pay regard to either (i) washing all the packages right away with soap and water or cleaning them with disinfectant directly when it gets in the house with soap and water, (ii) alternatively, unpacking the packaged things and then transferring them to clean pots to store them, and then tossing the packaging out, or (iii) quarantining the household items for three days in before they are touched again. Such guidelines refer to products bought in shops and brought to households, such as mail order grocery stores or meal delivery, etc. (Boucher, 2020). Seymour et al., (2020) suggested that washing hands or using hand sanitizer and disinfecting products should be done before carrying or touching packages to reduce the risk of potentially being exposed to coronavirus. Moreover, proper sanitation measures, as well as washing and sanitizing the surfaces of the kitchens and restaurants, are preferable safeguards compared to environmental surveillance of SARS-CoV-2 (FDA, 2020).

Moreover, proper cooking of seafood seems to be enough for safe consumption of them. Chin et al., (2020) observed that SARS-CoV-2 was inactivated after 5 minutes of incubation at 70°C. Such results reinforce the value of cooking or preparing food at 70°C for at least 5 minutes to reduce the possibility of transmission of SARS-CoV-2 via a possibly infected food supply. Shahidi (2020) suggests that consumption of all cooked food should be safe because no viable viruses can be identified after heat treatment. Until now, there were no records of COVID-19 being spread by seafood as well as other foods.

## CONCLUSION

Nowadays, people go through an unprecedented, huge challenge and disaster all over the world because of the SARS-CoV-2 outbreak. Many scientific evidences indicate that the aquatic environments may contain both RNA fragments and viable viruses. Moreover, *in-vitro* experiments have been shown that SARS-CoV-2 may survive at low temperatures and the potentials to stay infectious on foods and/or food packaging materials long enough to potentially cause transmission. Low temperature preservation of seafood during processing, *storage*,

*transfer*, *distribution* and *display in retail* stores are common methods. With this perspective, it seems that SARS-CoV-2 can survive on seafood and their environmental surface and fomites. However, there is no scientific evidence on waterborne or foodborne transmission of SARS-CoV-2. So, the chance of either waterborne or foodborne transmission of it is considered low and SARS-CoV-2 appears to mainly be spread through the respiratory tract. Consequently, seafood can safely consume with proper cooking and hygiene protocol.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The icons and vectors used in the graphical abstract were taken from <https://www.freepik.com> and some of them are modified.

## REFERENCES

- Ahmed, W., Angel, N., Edson, J., Bibby, K., Bivins, A., O'Brien, J.W., ... & Tschärke, B. (2020).** First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Science of The Total Environment*, *738*, 138764. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764
- Annalaura, C., Ileana, F., Dasheng, L. & Marco, V. (2020).** Making waves: Coronavirus detection, presence and persistence in the water environment: State of the art and knowledge needs for public health. *Water Research*, 115907.
- Bachofen, C. (2018).** Selected viruses detected on and in our food. *Current Clinical Microbiology Reports*, *5*(2), 143-153.
- Baduashvili, A., Oberle, L.P. & Devitt, J. (2020).** Frequency of Continuous Renal Replacement Therapy Use Early in Coronavirus Disease 2019 Pandemic. *Critical Care Explorations*, *2*(5), 0129.
- Bell, D., Robertson, S. & Hunter, P.R. (2004).** Animal origins of SARS coronavirus: possible links with the international trade in small carnivores. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *359*(1447), 1107-1114.
- BFR. (2020).** Can the new type of coronavirus be transmitted via food and objects? - BFR. [https://www.bfr.bund.de/en/can\\_the\\_new\\_type\\_of\\_coronavirus\\_be\\_transmitted\\_via\\_food\\_and\\_objects\\_-244090.html](https://www.bfr.bund.de/en/can_the_new_type_of_coronavirus_be_transmitted_via_food_and_objects_-244090.html)
- Bhattacharjee, S. (2020).** Statistical investigation of relationship between spread of coronavirus disease (COVID-19) and environmental factors based on study of four mostly affected places of China and five mostly affected places of Italy. <https://arxiv.org/ftp/arxiv/papers/2003/2003.11277.pdf>.
- Bosch, A. (2007).** Human Viruses in Water. Elsevier Academic Press, Amsterdam, The Netherlands
- Bosch, A., Abad, F.X. & Pintó, R.M. (2005).** Human pathogenic viruses in the marine environment. *In*

- Oceans and health: pathogens in the marine environment* (pp. 109-131). Springer, Boston, MA.
- Botero, L., Montiel, M. & Porto, L. (1996).** Enteroviruses in shrimp harvested from contaminated marine waters. *International Journal of Environmental Health Research*, *6*(2), 103-108.
- Boucher, R.C. (2020).** A College Senior in the Time of Coronavirus. Vanderbilt Lives, 3.
- Brown, J.D., Goekjian, G., Poulson, R., Valeika, S. & Stallknecht, D.E. (2009).** Avian influenza virus in water: infectivity is dependent on pH, salinity and temperature. *Veterinary Microbiology*, *136*(1-2), 20-26.
- Casanova, L., Rutala, W.A., Weber, D.J. & Sobsey, M.D. (2009).** Survival of surrogate coronaviruses in water. *Water Research*, *43*(7), 1893-1898.
- Chace, F.A.J.R. (1983).** The Atya-like shrimp of the Indo-Pacific region (Decapoda: Atyidae). *Smithsonian Contributions to Zoology*, *384*, 1-54.
- Chen, N., Zhou, M., Dong, X., Qu, J., Gong, F., Han, Y., ... & Yu, T. (2020b).** Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, *395*(10223), 507-513.
- Chen, Y., Chen, L., Deng, Q., Zhang, G., Wu, K., Ni, L., ... & Cheng, Z. (2020a).** The presence of SARS-CoV-2 RNA in the feces of COVID-19 patients. *Journal of Medical Virology*, *92*, 833-84.
- Cheng, P.K., Wong, D.K., Chung, T.W. & Lim, W.W. (2005).** Norovirus contamination found in oysters worldwide. *Journal of Medical Virology*, *76*(4), 593-597.
- Chin, A., Chu, J., Perera, M., Hui, K., Yen, H. L., Chan, M., ... & Poon, L. (2020).** Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *medRxiv*. DOI: [10.1101/2020.03.15.20036673](https://doi.org/10.1101/2020.03.15.20036673)
- Cui, J., Li, F. & Shi, Z.L. (2019).** Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, *17*(3), 181-192.
- Dai, M., Li, H., Yan, N., Huang, J., Zhao, L., Xu, S., ... & Liao, M. (2020).** Long-term survival of salmon-attached SARS-CoV-2 at 4°C as a potential source of transmission in seafood markets. *bioRxiv*. DOI: [10.1101/2020.09.06.284695](https://doi.org/10.1101/2020.09.06.284695)
- Darnell, M.E., Subbarao, K., Feinstone, S.M. & Taylor, D.R. (2004).** Inactivation of the coronavirus that induces severe acute respiratory syndrome, SARS-CoV. *Journal of Virological Methods*, *121*(1), 85-91.
- Dawson, P. (2020).** Transfer of microorganisms and respiratory viruses through food. *Medical Research Archives*, *8*(5), 1-17. DOI: [10.18103/mra.v8i5](https://doi.org/10.18103/mra.v8i5)
- de Wit, E., Prescott, J., Falzarano, D., Bushmaker, T., Scott, D., Feldmann, H. & Munster, V.J. (2014).** Foodborne transmission of nipah virus in Syrian hamsters. *PLoS Pathog*, *10*(3), e1004001.
- Densmore, C.L., Iwanowicz, D.D., McLaughlin, S.M., Ottinger, C.A., Spires, J.E. & Iwanowicz, L.R. (2019).** Influenza A Virus Detected in Native Bivalves in Waterfowl Habitat of the Delmarva Peninsula, USA. *Microorganisms*, *7*(9), 334.
- Domanska-Blicharz, K., Minta, Z., Smietanka, K., Marché, S. & Van Den Berg, T. (2010).** H5N1 high pathogenicity avian influenza virus survival in different types of water. *Avian Diseases*, *54*(1), 734-737.
- Dovas, C.I., Papanastassopoulou, M., Georgiadis, M.P., Chatzinasiou, E., Maliogka, V.I. & Georgiades, G.K. (2010).** Detection and quantification of infectious avian influenza A (H5N1) virus in environmental water by using real-time reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, *76*(7), 2165-2174.
- Drosten, C., Günther, S., Preiser, W., Van Der Werf, S., Brodt, H. R., Becker, S., ... & Doerr, H. W. (2003).** Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *New England journal of medicine*, *348*(20), 1967-1976.
- Dublineau, A., Batéjat, C., Pinon, A., Burguière, A.M. & Manuguerra, J.C. (2011).** Persistence of the 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus in water and on non-porous surface. *PLoS One*, *6*(11), e28043.
- Eissa, A.E., Hussein, H.A. & Zaki, M.M. (2012).** Detection of avian influenza (H5N1) in some fish and shellfish from different aquatic habitats across some Egyptian provinces. *Life Science Journal*, *9*(3), 2702-2712.
- El Baz, S. & Imzilin, B. (2020).** Can human transmit COVID-19 to animal? *Journal of Clinical & Experimental Investigations/Klinik ve Deneyisel Arastirmalar Dergisi*, *11*(3), 1-3
- Elsamadony, M., Fujii, M., Miura, T. & Watanabe, T. (2021).** Possible transmission of viruses from contaminated human feces and sewage: Implications for SARS-CoV-2. *Science of The Total Environment*, *755*, 142575.
- Eslami, H. & Jalili, M. (2020).** The role of environmental factors to transmission of SARS-CoV-2 (COVID-19). *AMB Express*, *10*(1), 1-8.
- Esper, F., Ou, Z. & Huang, Y.T. (2010).** Human coronaviruses are uncommon in patients with gastrointestinal illness. *Journal of Clinical Virology*, *48*(2), 131-133.
- FDA. (2020).** Best practices for retail food stores, restaurants, and food pick-up/delivery services during the COVID-19 pandemic | FDA. <https://www.fda.gov/food/foodsafety-during-emergencies/best-practices-retail-food-stores-restaurants-and-foodpick-updelivery-services-during-covid-19>.
- Gheraout, D. & Gheraout, B. (2020).** Controlling COVID-19 pandemic through wastewater monitoring. *Open Access Library Journal*, *7*(5), 1-20.
- Gibson, K.E. (2014).** Viral pathogens in water: occurrence, public health impact, and available control strategies. *Current Opinion n Virology*, *4*, 50-57.
- Goyal, S.M. & Nelson, M.D. (1984).** Viral pollution of the marine environment. *Critical Reviews in Environmental Control*, *14*(1), 1-32.
- Griffin, D.W., Donaldson, K.A., Paul, J.H. & Rose, J.B. (2003).** Pathogenic human viruses in coastal waters. *Clinical Microbiology Reviews*, *16*(1), 129-143.
- Guerrero-Latorre, L., Ballesteros, I., Villacres, I., Granda-Albuja, M.G., Freire, B. & Rios-Touma, B. (2020).** First SARS-CoV-2 detection in river water: implications in low sanitation countries. *medRxiv*. DOI: [10.1101/2020.06.14.20131201](https://doi.org/10.1101/2020.06.14.20131201)

- Gundy, P.M., Gerba, C.P. & Pepper, I.L. (2009). Survival of coronaviruses in water and wastewater. *Food and Environmental Virology*, *1*(1), 10.
- Hejkal, T.W. & Gerba, C.P. (1981). Uptake and survival of enteric viruses in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Applied and Environmental Microbiology*, *41*(1), 207-211.
- Heller, L., Mota, C.R. & Greco, D.B. (2020). COVID-19 faecal-oral transmission: Are we asking the right questions? *Science of the Total Environment*, 138919.
- Holshue, M.L., DeBolt, C., Lindquist, S., Lofy, K.H., Wiesman, J., Bruce, H., ... & Pillai, S. (2020). First case of 2019 novel coronavirus in the United States. *New England Journal of Medicine*, *382*, 929-936.
- Hussain, M.M., Islam, M.S., Al Mahmud, M.A., Islam, M.N. & Hasan, K. (2016). Prevalence of avian influenza in three selected upazilas of Barisal district in Bangladesh. *International Journal of Natural and Social Sciences*, *3*(2), 01-03.
- Huyvaert, K.P., Carlson, J.S., Bentler, K.T., Cobble, K.R., Nolte, D.L. & Franklin, A.B. (2012). Freshwater clams as bioconcentrators of avian influenza virus in water. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, *12*(10), 904-906.
- Ijaz, M.K., Brunner, A.H., Sattar, S.A., Nair, R.C. & Johnson-Lussenburg, C.M. (1985). Survival characteristics of airborne human coronavirus 229E. *Journal of General Virology*, *66*(12), 2743-2748.
- Isakbaeva, E.T., Khetsuriani, N., Beard, R.S., Peck, A., Erdman, D., Monroe, S.S., ... & SARS Investigation Group. (2004). SARS-associated coronavirus transmission, United States. *Emerging Infectious Diseases*, *10*(2), 225.
- Kampf, G., Todt, D., Pfaender, S. & Steinmann, E. (2020). Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of Hospital Infection*, *104*(3), 246-251.
- Koopmans, M. & Duizer, E. (2004). Foodborne viruses: an emerging problem. *International Journal of Food Microbiology*, *90*(1), 23-41.
- Koopmans, M. (2005). Food-borne norovirus outbreaks: a nuisance or more than that? *Wien Klin Wochenschr*, *117*, 789-791
- Kovač, K., Gutiérrez-Aguirre, I., Banjac, M., Peterka, M., Poljšak-Prijatelj, M., Ravnikar, M., ... & Raspor, P. (2009). A novel method for concentrating hepatitis A virus and caliciviruses from bottled water. *Journal of Virological Methods*, *162*(1-2), 272-275.
- Ksiazek, T. G., Erdman, D., Goldsmith, C. S., Zaki, S. R., Peret, T., Emery, S., ... & SARS Working Group. (2003). A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *New England Journal of Medicine*, *348*(20), 1953-1966.
- La Rosa, G., Bonadonna, L., Lucentini, L., Kenmoe, S. & Suffredini, E. (2020a). Coronavirus in water environments: Occurrence, persistence and concentration methods-A scoping review. *Water Research*, 115899.
- La Rosa, G., Iaconelli, M., Mancini, P., Ferraro, G.B., Veneri, C., Bonadonna, L., Lucentini, L., ... & Suffredini, E. (2020b). First detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewaters in Italy. *Science of the Total Environment*, *736*, 139652. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139652
- La Rosa, G., Mancini, P., Ferraro, G.B., Veneri, C., Iaconelli, M., Bonadonna, L., Lucentini, L., ... & Suffredini, E. (2020c). SARS-CoV-2 has been circulating in northern Italy since December 2019: evidence from environmental monitoring. *Science of the Total Environment*, *750*, 141711. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141711
- Lai, C.C., Shih, T.P., Ko, W.C., Tang, H.J. & Hsueh, P.R. (2020). Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and corona virus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *55*, 105924.
- Lebarbenchon, C., Yang, M., Keeler, S.P., Ramakrishnan, M.A., Brown, J.D., Stallknecht, D.E. & Sreevatsan, S. (2011). Viral replication, persistence in water and genetic characterization of two influenza A viruses isolated from surface lake water. *PLoS one*, *6*(10), e26566. DOI: 10.1371/journal.pone.0026566
- Lees, D. (2000). Viruses and bivalve shellfish. *International Journal of Food Microbiology*, *59*(1-2), 81-116.
- Lei, H., Xiao, S., Cowling, B.J. & Li, Y. (2020). Hand hygiene and surface cleaning should be paired for prevention of fomite transmission. *Indoor Air*, *30*(1), 49-59.
- Leung, G.M., Lim, W.W., Ho, L.M., Lam, T.H., Ghani, A.C., Donnelly, C.A., ... & Hedley, A.J. (2006). Seroprevalence of IgG antibodies to SARS-coronavirus in asymptomatic or subclinical population groups. *Epidemiology & Infection*, *134*(2), 211-221. DOI: 10.1017/S0950268805004826
- Leung, W.K., To, K.F., Chan, P.K., Chan, H.L., Wu, A.K., Lee, N., ... & Sung, J.J. (2003). Enteric involvement of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection. *Gastroenterology*, *125*(4), 1011-1017.
- Li, D., Stals, A., Tang, Q.J. & Uyttendaele, M. (2014). Detection of noroviruses in shellfish and semiprocessed fishery products from a Belgian seafood company. *Journal of Food Protection*, *77*(8), 1342-1347.
- Li, D., Zhao, M.Y. & Hsern, M.T.T. (2021). What makes a foodborne virus: comparison between coronaviruses with human noroviruses. *Current Opinion in Food Science*, *42*, 1-7
- Liu, J., Xiao, H., Lei, F., Zhu, Q., Qin, K., Zhang, X.W., ... & Gao, G.F. (2005). Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*, *309*(5738), 1206-1206.
- Liya, G., Yuguang, W., Jian, L., Huaiping, Y., Xue, H., Jianwei, H., ... & Yiqing, J. (2020). Studies on viral pneumonia related to novel coronavirus SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV: a literature review. *APMIS*, *128*(6), 423-432.
- Lodder, W. & de Roda Husman, A.M. (2020). SARS-CoV-2 in wastewater: potential health risk, but also data source. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, *5*(6), 533-534.
- Luby, S.P., Nahar, N. & Gurley, E.S. (2016). Reducing the risk of foodborne transmission of Nipah virus. *In*

- Food Safety Risks from Wildlife* (pp. 151-167). Springer, Cham.
- Markwell, D.D. & Shortridge, K.F. (1982).** Possible waterborne transmission and maintenance of influenza viruses in domestic ducks. *Applied and Environmental Microbiology*, **43**(1), 110-115.
- McKinney, K.R., Gong, Y.Y. & Lewis, T.G. (2006).** Environmental transmission of SARS at Amoy Gardens. *Journal of Environmental Health*, **68**(9), 26.
- Medema, G., Heijnen, L., Elsinga, G., Italiaander, R. & Brouwer, A. (2020).** Presence of SARS Coronavirus-2 in sewage. *Environmental Science & Technology Letters*, **7**(7), 511-516. DOI: [10.1101/2020.03.29.20045880](https://doi.org/10.1101/2020.03.29.20045880)
- Mullis, L., Saif, L.J., Zhang, Y., Zhang, X. & Azevedo, M.S. (2012).** Stability of bovine coronavirus on lettuce surfaces under household refrigeration conditions. *Food Microbiology*, **30**(1), 180-186.
- Nakajima, N., Hata, S., Sato, Y., Tobiume, M., Katano, H., Kaneko, K., ... & Sata, T. (2010).** The first autopsy case of pandemic influenza (A/H1N1pdm) virus infection in Japan: detection of a high copy number of the virus in type II alveolar epithelial cells by pathological and virological examination. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **63**(1), 67-71.
- Nazir, J., Haumacher, R., Ike, A.C. & Marschang, R.E. (2011).** Persistence of avian influenza viruses in lake sediment, duck feces, and duck meat. *Applied and Environmental Microbiology*, **77**(14), 4981-4985.
- Nwachuku, N. & Gerba, C.P. (2004).** Emerging waterborne pathogens: can we kill them all? *Current Opinion in Biotechnology*, **15**(3), 175-180.
- Ohimain, E.I. (2016).** Ecology of Ebolavirus: a Review of Current Knowledge, Speculations and Future Research Directions. *Virology*, **1**(3), 555564.
- OIE (Office International des Epizooties). (2019).** *WAHIS country report, Namibia*. [http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Countryinformation/Countryreports](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Countryreports). Accessed May 2019
- Oliver, M.M.H., Hewa, G.A., Pezzaniti, D., Haque, M.A., Haque, S., Haque, M.M., ... & Kadir, M.N. (2020).** COVID-19 and Recycled Wastewater Irrigation: A Review of Implications. *Preprints*, DOI: [10.20944/preprints202006.0105.v1](https://doi.org/10.20944/preprints202006.0105.v1)
- Orive, G., Lertxundi, U. & Barcelo, D. (2020).** Early SARS-CoV-2 outbreak detection by sewage-based epidemiology. *Science of the Total Environment*, **732**, 139298.
- Palese, P. & Shaw, M.L. (2007).** Orthomyxoviridae: The Viruses and Their Replication, 404 p. *Fields Virology*, Fifth Edition ed, **2**, 405.
- Pathak, A.P., Murugkar, H.V., Nagarajan, S., Sood, R., Tosh, C., Kumar, M., Athira, C.K. & Praveen, A. (2018).** Survivability of low pathogenic (H9N2) avian influenza virus in water in the presence of *Atyopsis moluccensis* (Bamboo shrimp). *Zoonoses and Public Health*, **65**(1), e124-e129. DOI: [10.1111/zph.12420](https://doi.org/10.1111/zph.12420)
- Peccia, J., Zulli, A., Brackney, D.E., Grubaugh, N.D., Kaplan, E.H., Casanovas-Massana, A., ... & Omer, S.B. (2020).** Measurement of SARS-CoV-2 RNA in wastewater tracks community infection dynamics. *Nature Biotechnology*, **38**(10), 1164-1167.
- Peiris, J.S.M., Chu, C.M., Cheng, V.C.C., Chan, K.S., Hung, I.F.N., Poon, L.L., ... & HKU/UCH SARS Study Group. (2003).** Clinical progression and viral load in a community outbreak of coronavirus-associated SARS pneumonia: a prospective study. *The Lancet*, **361**(9371), 1767-1772.
- Pinon, A., & Vialette, M. (2018).** Survival of viruses in water. *Intervirology*, **61**(5), 214-222.
- Pressman, P., Naidu, A.S. & Clemens, R. (2020).** COVID-19 and food safety: risk management and future considerations. *Nutrition Today*, **55**(3), 125-128. DOI: [10.1097/NT.0000000000000415](https://doi.org/10.1097/NT.0000000000000415)
- Pung, R., Chiew, C.J., Young, B.E., Chin, S., Chen, M.I., Clapham, H.E., ... & Low, M. (2020).** Investigation of three clusters of COVID-19 in Singapore: implications for surveillance and response measures. *The Lancet*, **395**(10229), 1039-1046.
- Qu, G., Li, X., Hu, L. & Jiang, G. (2020).** An imperative need for research on the role of environmental factors in transmission of novel coronavirus (COVID-19). *Environmental Science & Technology*, **54**(7), 3730-3732
- Randazzo, W., Truchado, P., Cuevas-Ferrando, E., Simón, P., Allende, A. & Sánchez, G. (2020).** SARS-CoV-2 RNA in wastewater anticipated COVID-19 occurrence in a low prevalence area. *Water Research*, **15**(81), 115942.
- Rimoin, A.W., Mulembakani, P.M., Johnston, S.C., Smith, J.O.L., Kivalu, N.K., Kinkela, T.L., ... & Muyembe, J.J. (2010).** Major increase in human monkeypox incidence 30 years after smallpox vaccination campaigns cease in the Democratic Republic of Congo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**(37), 16262-16267.
- Rizou, M., Galanakis, I.M., Aldawoud, T.M. & Galanakis, C.M. (2020).** Safety of foods, food supply chain and environment within the COVID-19 pandemic. *Trends in Food Science & Technology*, **102**, 293-299.
- Roche, B., Lebarbenchon, C., Gauthier-Clerc, M., Chang, C.M., Thomas, F., Renaud, F., ... & Guegan, J.F. (2009).** Water-borne transmission drives avian influenza dynamics in wild birds: the case of the 2005-2006 epidemics in the Camargue area. *Infection, Genetics and Evolution*, **9**(5), 800-805.
- Root, J.J., Bentler, K.T., Shriner, S.A., Mooers, N.L., VanDalen, K.K., Sullivan, H.J., ... & Franklin, A.B. (2014).** Ecological routes of avian influenza virus transmission to a common mesopredator: an experimental evaluation of alternatives. *Plos One*, **9**(8), e102964.
- Roy Chowdhury, I., Yeddula, S.G.R. & Kim, S.H. (2019).** Pathogenicity and transmissibility of North American H7 low pathogenic avian influenza viruses in chickens and turkeys. *Viruses*, **11**(2), 163.
- Scholtissek, C. & Naylor, E. (1988).** Fish farming and influenza pandemics. *Nature*, **331**(6153), 215-215.
- Seymour, I.J. & Appleton, H. (2001).** Foodborne viruses and fresh produce. *Journal of Applied Microbiology*, **91**(5), 759-773.
- Seymour, N., Yavelak, M., Christian, C. & Chapman, B. (2020).** COVID-19 and food safety FAQ: Is



- coronavirus a concern with takeout? <https://edis.ifas.ufl.edu/fs349>.
- Shahbaz, M., Bilal, M., Akhlaq, M., Moiz, A., Zubair, S. & Iqbal, H.M. (2020).** Strategic measures for food processing and manufacturing facilities to combat coronavirus pandemic (COVID-19). *Journal of Pure and Applied Microbiology*, **14**(2), 1087-1094.
- Shahidi, F. (2020).** Does COVID-19 Affect food safety and security? *Journal of Food Bioactives*, **9**.
- Shao, Z.J., Zhang, L., Xu, J.Q., Xu, D.Z., Men, K., Zhang, J.X., ... & Yan, Y.P. (2011).** Mother-to-infant transmission of hepatitis B virus: a Chinese experience. *Journal of Medical Virology*, **83**(5), 791-795.
- Sharma, P., Tripathi, S., Patel, S.K., Dhama, K. & Chandra, R. (2020).** SARS-CoV-2/COVID-19 and its transmission. *Prevention, Treatment and Control—An Update, Journal of Pure and Applied Microbiology*, **14**(suppl 1), 945-956.
- Siddell, S., Wege, H. & Ter Meulen, V. (1983).** The biology of coronaviruses. *Journal of General Virology*, **64**(4), 761-776.
- Siddell, S.G. (1995).** The coronaviridae. In *The coronaviridae* (pp. 1-10). Springer, Boston, MA.
- Silverman, A.I. & Boehm, A.B. (2020).** Systematic review and meta-analysis of the persistence and disinfection of human coronaviruses and their viral surrogates in water and wastewater. *Environmental Science & Technology Letters*, **7**(8), 544-553
- Skraber, S., Schijven, J., Gantzer, C. & Husman, A.D.R. (2005).** Pathogenic viruses in drinking-water biofilms: a public health risk? *Biofilms*, **2**(2), 105.
- Stallknecht, D.E., Kearney, M.T., Shane, S.M. & Zwank, P.J. (1990).** Effects of pH, temperature, and salinity on persistence of avian influenza viruses in water. *Avian Diseases*, 412-418.
- Stumpf, P., Failing, K., Papp, T., Nazir, J., Böhm, R. & Marschang, R.E. (2010).** Accumulation of a low pathogenic avian influenza virus in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*). *Avian Diseases*, **54**(4), 1183-1190.
- Taştan, C., Yurtsever, B., Karakuş, G.S., Kançağı, D. D., Demir, S., Abanuz, S., ... & Ovali, E. (2020).** SARS-CoV-2 isolation and propagation from Turkish COVID-19 patients. *Turkish Journal of Biology*, **44**(3), 192.
- Tennant, B.J., Gaskell, R.M. & Gaskell, C.J. (1994).** Studies on the survival of canine coronavirus under different environmental conditions. *Veterinary Microbiology*, **42**(2-3), 255-259.
- Thanapongtharm, W., Van Boeckel, T.P., Biradar, C., Xiao, X. & Gilbert, M. (2013).** Rivers and flooded areas identified by medium-resolution remote sensing improve risk prediction of the highly pathogenic avian influenza H5N1 in Thailand. *Geospatial Health*, **8**(1), 193.
- Tian, X., Li, C., Huang, A., Xia, S., Lu, S., Shi, Z., ... & Ying, T. (2020).** Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerging Microbes & Infections*, **9**(1), 382-385.
- Todd, E.C. & Grieg, J.D. (2015).** Viruses of foodborne origin: a review. *Virus Adaptation and Treatment*, **7**, 25-45.
- Tumpey, T.M., Basler, C.F., Aguilar, P.V., Zeng, H., Solórzano, A., Swayne, D.E., ... & Garcia-Sastre, A. (2005).** Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*, **310**(5745), 77-80.
- Vabret, A., Dina, J., Gouarin, S., Petitjean, J., Corbet, S. & Freymuth, F. (2006).** Detection of the new human coronavirus HKU1: a report of 6 cases. *Clinical Infectious Diseases*, **42**(5), 634-639.
- Van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D.H., Holbrook, M.G., Gamble, A., Williamson, B.N., ... & Munster, V.J. (2020).** Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*, **382**(16), 1564-1567.
- Van Doremalen, N., Miazgowiec, K.L., Milne-Price, S., Bushmaker, T., Robertson, S., Scott, D., ... & Munster, V.J. (2014).** Host species restriction of Middle East respiratory syndrome coronavirus through its receptor, dipeptidyl peptidase 4. *Journal of Virology*, **88**(16), 9220-9232.
- Walker, J.S., Archer, J., Gregson, F.K., Michel, S.E., Bzdek, B.R. & Reid, J. P. (2021).** Accurate Representations of the Microphysical Processes Occurring during the Transport of Exhaled Aerosols and Droplets. *ACS Central Science*, **7**(1), 200-209. DOI: [10.1021/acscentsci.0c01522](https://doi.org/10.1021/acscentsci.0c01522)
- Wang, H., Sikora, P., Rutgersson, C., Lindh, M., Brodin, T., Björleinius, B., ... & Norder, H. (2018).** Differential removal of human pathogenic viruses from sewage by conventional and ozone treatments. *International Journal of Hygiene And Environmental Health*, **221**(3), 479-488.
- Wang, M., Yan, M., Xu, H., Liang, W., Kan, B., Zheng, B., ... & Wang, H. (2005).** SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet. *Emerging Infectious Diseases*, **11**(12), 1860.
- Weber, D.J., Rutala, W.A., Fischer, W.A., Kanamori, H., & Sickbert-Bennett, E.E. (2016).** Emerging infectious diseases: Focus on infection control issues for novel coronaviruses (Severe Acute Respiratory Syndrome-CoV and Middle East Respiratory Syndrome-CoV), hemorrhagic fever viruses (Lassa and Ebola), and highly pathogenic avian influenza viruses, A (H5N1) and A (H7N9). *American Journal of Infection Control*, **44**(5), 91-100.
- Webster, R.G. (1994).** While awaiting the next pandemic of influenza. *BMJ*, **309**, 1179.
- Webster, R.G., Yakhno, M., Hinshaw, V.S., Bean, W.J. & Murti, K.C. (1978).** Intestinal influenza: replication and characterization of influenza viruses in ducks. *Virology*, **84**(2), 268-278.
- WHO. (2008).** Viruses in food: scientific advice to support risk management activities-Meeting report.
- WHO. (2015).** WHO estimates of the global burden of foodborne diseases. *Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group*, 2007-2015.
- WHO. (2019).** World Health Organization Sanitation fact sheet. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sanitation> [accessed 20.03.20]
- WHO. (2020).** COVID-19 and food safety: Guidance for food businesses. <https://www.who.int/publications-detail/covid-19-and-food-safety-guidance-for-food-businesses>.

- Wigginton, K.R., Ye, Y. & Ellenberg, R.M. (2015). Emerging investigators series: the source and fate of pandemic viruses in the urban water cycle. *Environmental Science: Water Research & Technology*, *1*(6), 735-746.
- Wolfe, N.D., Daszak, P., Kilpatrick, A.M. & Burke, D.S. (2005). Bushmeat hunting, deforestation, and prediction of zoonotic disease. *Emerging Infectious Diseases*, *11*(12), 1822.
- Wu, F., Xiao, A., Zhang, J., Gu, X., Lee, W. L., Kauffman, K., ... & Alm, E. (2020b). SARS-CoV-2 titers in wastewater are higher than expected from clinically confirmed cases. *MedRxiv*, DOI: [10.1101/2020.04.05.20051540](https://doi.org/10.1101/2020.04.05.20051540)
- Wu, Y., Guo, C., Tang, L., Hong, Z., Zhou, J., Dong, X., ... & Huang, X. (2020a). Prolonged presence of SARS-CoV-2 viral RNA in faecal samples. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*, *5*(5), 434-435.
- Wurtzer, S., Marechal, V., Mouchel, J.M. & Moulin, L. (2020). Time course quantitative detection of SARS-CoV-2 in Parisian wastewaters correlates with COVID-19 confirmed cases. *MedRxiv*, 2020.04.05.20051540.
- Xiao, F., Sun, J., Xu, Y., Li, F., Huang, X., Li, H., ... & Zhao, J. (2020a). Infectious SARS-CoV-2 in feces of patient with severe COVID-19. *Emerging Infectious Diseases*, *26*(8), 1920.
- Xiao, F., Tang, M., Zheng, X., Liu, Y., Li, X. & Shan, H. (2020b). Evidence for gastrointestinal infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology*, *158*(6), 1831-1833.
- Ye, Y., Ellenberg, R.M., Graham, K.E. & Wigginton, K.R. (2016). Survivability, partitioning, and recovery of enveloped viruses in untreated municipal wastewater. *Environmental Science & Technology*, *50*(10), 5077-5085.
- Yekta, R., Vahid-Dastjerdi, L., Norouzbeigi, S., & Mortazavian, A.M. (2020). Food products as potential carriers of SARS-CoV-2. *Food Control*, 107754. DOI: [10.1016/j.foodcont.2020.107754](https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107754)
- Yeo, C., Kaushal, S. & Yeo, D. (2020). Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *The lancet Gastroenterology & hepatology*, *5*(4), 335-337.
- Yezli, S. & Otter, J.A. (2011). Minimum infective dose of the major human respiratory and enteric viruses transmitted through food and the environment. *Food and Environmental Virology*, *3*(1), 1-30.
- Zehra, Z., Luthra, M., Siddiqui, S. M., Shamsi, A., Gaur, N. & Islam, A. (2020). Corona virus versus existence of human on the earth: A computational and biophysical approach. *International Journal of Biological Macromolecules*, *161*, 271-281.
- Zhang, T., Bi, Y., Tian, H., Li, X., Liu, D., Wu, Y., ... & Xu, B. (2014). Human infection with influenza virus A (H10N8) from live poultry markets, China, 2014. *Emerging Infectious Diseases*, *20*(12), 2076.
- Zhang, X., Cai, H., Hu, J., Lian, J., Gu, J., Zhang, S., ... & Yang, Y. (2020). Epidemiological, clinical characteristics of cases of SARS-CoV-2 infection with abnormal imaging findings. *International Journal of Infectious Diseases*, *94*, 81-87.
- Zheng, S., Fan, J., Yu, F., Feng, B., Lou, B., Zou, Q., ... & Liang, T. (2020). Viral load dynamics and disease severity in patients infected with SARS-CoV-2 in Zhejiang province, China, January-March 2020: retrospective cohort study. *BMJ*, 369. DOI: [10.1136/bmj.m1443](https://doi.org/10.1136/bmj.m1443)



## Changes in Length-Weight Relationships of Three Different Commercial Sea Cucumber During Processing and Corrected of Fisheries Data

Gökhan BALLIKAYA<sup>1\*</sup> Mehmet AYDIN<sup>2</sup> Serkan ERKAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mediterranean Fisheries Research Production and Training Institute, Antalya, Turkey

<sup>2</sup>Fatsa Faculty of Marine Science, Ordu University, Turkey

Received: 29 Temmuz 2020

Accepted: 4 Şubat 2021

Published: 31 Mart 2021

How to cite: Ballıkaya, G., Aydın, M. & Erkan, S. (2021). Changes in Length-Weight Relationships of Three Different Commercial Sea Cucumber During Processing and Corrected of Fisheries Data. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 43-49.

Atıf yapmak için: Ballıkaya, G., Aydın, M. & Erkan, S. (2021). Ticari Üç Farklı Deniz Hıyarı Türünün İşleme Sırasındaki Boy-Ağırlık Değişimleri ve Düzeltilmiş Avcılık Verileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 43-49.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0003-3079-1571>  
ID: <https://orcid.org/0000-0003-1163-6461>  
ID: <https://orcid.org/0000-0002-5674-8478>

\*Corresponding author's:  
Gökhan BALLIKAYA  
Mediterranean Fisheries Research Production  
and Training Institute, Antalya, Turkey.  
✉: [gkhanballikaya@gmail.com](mailto:gkhanballikaya@gmail.com)

**Abstract:** In this study, the length and weight changes of 3 commercial sea cucumbers (*Holothuria tubulosa*, *Holothuria polii*, *Holothuria sanctori*) during the boiling, freezing and drying processes were investigated. 200 individuals from each species were sampled with SCUBA diving from Ildır Bay, Izmir, in 2019. Gutted weights and length of each individual were measured after each processing stage (boiling, freezing and drying). Average weight losses between the gutted weight and frozen weight of *H. tubulosa*, *H. polii* and *H. sanctori* were 68.3%, 59.5% and 67.7%, respectively. While the average weight losses between gutted weights and dried weights were 91.3%, 88.6% and 92.6% in the same order. *H. tubulosa*, *H. sanctori* and *H. polii* lost their total length after frozen and dried with 48.7% and 63.6%, 55.3% and 64.9%, 39.8% and 48.3%, respectively. Total production of gutted weight in Turkey was recalculated based on the yield of dried and frozen as 4.705.275 kg. All results obtained were presented for the sustainable management of sea cucumber stocks and quota implementation in Turkey waters.

**Keywords:** *Holothuria polii*, *Holothuria sanctori*, *Holothuria tubulosa*, weight lost during processing.

## Ticari Üç Farklı Deniz Hıyarı Türünün İşleme Sırasındaki Boy-Ağırlık Değişimleri ve Düzeltilmiş Avcılık Verileri

**Öz:** Bu çalışmada, ticari 3 denizhıyarının (*Holothuria tubulosa*, *Holothuria polii*, *Holothuria sanctori*) haşlama, dondurulma ve kurutulma işlemleri sırasındaki boy ve ağırlık değişimleri araştırılmıştır. Bu kapsamda 2019 yılında, İzmir ili Ildır Körfezi'nden üç tür SCUBA yöntemiyle her bir türden 200 birey örnekleterek gerçekleştirilmiştir. Her bir bireyin karkas ağırlığı ile, haşlandıktan, dondurulduktan ve kurutulduktan sonraki ağırlıkları ve boyları ölçülmüştür. *H. tubulosa*, *H. polii* ve *H. sanctori* türlerinin karkas ağırlıkları ile dondurulmuş ağırlıkları arasındaki ortalama ağırlık kayıpları sırasıyla %68,3, %59,5 ve %67,7 iken, karkas ağırlıkları ile kurutulmuş ağırlıkları arasındaki ortalama ağırlık kayıpları %91,3, %88,6 ve %92,6 olarak tespit edilmiştir. *H. tubulosa* dondurulduktan sonra %48,7 ve kurutulduktan sonra % 63,6 oranında, *H. sanctori* sırasıyla %55,3 ve %64,9, *H. polii* %39,8 ve %48,3 oranında boy kaybına uğramaktadırlar. Türkiye'deki toplam üretim miktarı, karkas ağırlık kayıplarına göre yeniden hesaplandığında 4.705.275 kg olarak belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar Türkiye'deki denizhıyarı stoklarının sürdürülebilir yönetimi ve kota belirleme işlemleri için ilgili bakanlığa görüş olarak sunulmuştur.

\*Sorumlu yazar:  
Gökhan BALLIKAYA  
Akdeniz Su Ürünleri Araştırma Üretim ve  
Eğitim Enstitüsü, Antalya, Türkiye.  
✉: [gkhanballikaya@gmail.com](mailto:gkhanballikaya@gmail.com)

**Anahtar kelimeler:** *Holothuria polii*, *Holothuria sanctori*, *Holothuria tubulosa*, işleme sırasındaki ağırlık kayıpları.

## INTRODUCTION

Invertebrate echinoderm sea cucumbers occur in many marine ecosystems, but they are mostly distributed in tropical shallow water and coral reef areas. These organisms can be found from the shallowest areas to the deepest points of marine benthic ecosystems (Gilliland, 1993). Although there are about 1200 sea cucumber species in the world seas, only about 60 species have been commercially fished (Conand, 1990; González - Wangüemert et al., 2014). There are 9 sea cucumber species in Turkish coast and 4 are commercially traded (Aydın, 2008; Aydın, 2013; Aydın, 2016; Aydın et al., 2019).

Sea cucumbers are fished with air supplied diving and free diving or SCUBA diving methods in the Aegean Sea of Turkey. Fisheries of this species are prohibited by other methods (BSGM, 2016).

There is no domestic consumption of sea cucumbers and therefore they are exported as fresh, frozen, dried, salted or smoked to the Far East (China and Singapore) and United States (Aydın, 2008; Aydın et al., 2011; TURKSTAT, 2020). In terms of global scale, Indonesia has the biggest sea cucumber production.

In Turkey, legal regulations such as fishing area, fishing periods, fishing methods and fishing permissions of sea cucumbers have been made by General Directorate of Fisheries, the Ministry of Agriculture and Forestry every 4 years since 2008. In this context, sea cucumber fisheries can only be made in Aegean Sea and fishing areas are divided into two regions, the Southern and Northern Aegean Sea and fisheries are permitted at the basis of fallow method (Aydın, 2008; Aydın, 2017; BSGM, 2016). With the last interim regulation, the quota application was started and the sea cucumber fisheries period was narrowed between January 01 and May 31 for 2020 season with a quota amount of 2500 tons (gutted weight). As of September 2020, 4-years regulation will be made (BSGM, 2019).

Sea cucumber production in Turkey has increased year by year and all production has been exported. Illegal export is almost nonexistent and it is known that only small amounts were exported abroad without any complaints, known as “suitcase trade” (personal observations; Dr. Mehmet AYDIN). Current production and export quantities in Turkey are given in Table 1.

Estimating the amount harvested from the wild was especially difficult since sea cucumbers were exported semi-processed (salted, pickled, smoked etc.) or dried. Therefore, the amounts of total weight harvested from the stock are not known.

In the present study, changes of length and weight of sea cucumber commercially caught and exported during processing were studied with an aim to provide basic data that are required by the concerned ministry to make legal

regulations. Moreover, 2020 national quota amount was established based on the data obtained by this study.

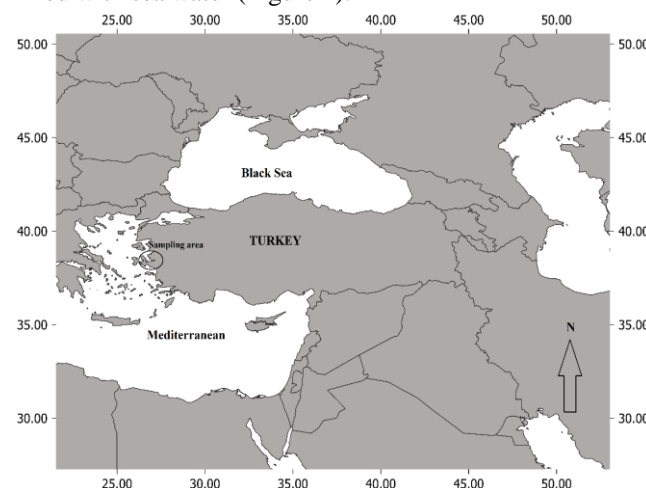
**Table 1.** Sea cucumber production and export amounts by years in Turkey (TURKSTAT, 2020).

Years	Total (kg)	Dried* (kg)	Frozen (kg)
2008	33.669	789	32.880
2009	37.976	7.036	30.940
2010	97.183	16.203	80.980
2011	479.985	13.930	466.055
2012	447.644	27.479	420.165
2013	254.226	21.465	232.761
2014	247.585	23.585	224.000
2015	270.270	51.300	218.970
2016	378.883	74.654	306.229
2017	824.292	130.062	694.230
2018	943.585	141.841	801.744
2019	1.292.121	122.271	1.169.850

\*Dried, salted, pickled, smoked.

## MATERIAL AND METHOD

A total 200 specimens from each species were collected in 2019 by SCUBA diving method from Ilica Bay, İzmir and delivered alive to the laboratory in plastic barrels filled with sea water (Figure 1).



**Figure 1.** Sampling area.

Wet weights of sea cucumbers can change depending on visceral and internal fluid ejections under stressful conditions and sediment amounts in their body. For this reason, gutted weight is the most reliable morphometric measurement (Aydın & Erkan 2015; Dereli et al., 2016; Aydın, 2020). Thus, gutted weights (GW) of all individuals sampled in the present study were determined in every stage with a precision of 0.01 g. Length and thickness measurements were done using a caliper to a nearest 0.01 cm. All gutted samples were boiled at 100–120°C for about 30 minutes and 100 samples were left in sunlight (72 hours) for dry products while for frozen products, the samples (remaining 100) were first subjected to -40°C and then stored at -18°C (72 hours) Every stage of these processes, the measurements were recorded.

Relationships between gutted length (GL) and weight (GW), boiled length (BL) and boiled weight (BW), frozen length (FL) and frozen weight (FW), dried length (DL) and dried weight (DW) were examined with a nonlinear method  $W = aL^b$  whereas those between boiled length (BL) and boiled thickness (BT), frozen length (FL) and frozen thickness (FT), dried length (DL) and dried thickness (DT) were tested with a linear model,  $Y = ax + b$ .

Whether the difference between the processing methods, because it is variable length and thickness, the analysis was only according to weight. Kolmogorov-Smirnov Test was applied to all data to determine the distribution before comparing the methods. According to the test results, it was determined that there was no normal distribution and Kruskal Wallis and Mann Whitney-U Tests, which are non-parametric comparison tests, were used (Aydin et al., 2014; Aydin et al., 2020).

**RESULTS**

The highest average gutted length and gutted weight among three species studies was in *H. sanctori* with 20.8 cm and 142.0 g while the lowest values in *H. polii* with 11.8 cm and 44.4 g (Table 2).

**Table 2.** Average gutted length and weight of sampled species in the study.

Species	N	L (cm)		W (g)	
		Mean±SE	Min - Max	Mean±SE	Min - Max
<i>H. tubulosa</i>	200	15.6 ± 2.88	9.0 - 25.0	57.3 ± 22.77	19.0 - 134.0
<i>H. polii</i>	200	11.8 ± 2.00	8.0 - 21.5	44.4 ± 16.05	12.0 - 104.0
<i>H. sanctori</i>	200	20.8 ± 3.01	13.3 - 29.5	124.0 ± 28.04	54.0 - 203.0

N: number of samples, L: gutted length, W: gutted weight, Min: Minimum, Max: maximum, SE: Standard error.

Length-weight relationships of sea cucumber species was estimated the highest “b” value for *H. sanctori* (1.8444) and the lowest for *H. polii* (1.1922) (Table 3),

**Table 4.** Mean length and weight of *H. tubulosa* for each processing stage.

Process	N	Length (cm)		Weight (g)		Thickness (cm)	
		Mean±SE	Min - Max	Mean±SE	Min - Max	Mean±SE	Min - Max
Boiled	200	8.0 ± 1.42	4.5 - 12	19.9 <sup>a</sup> ± 8.9	6.0 - 51	1.8 ± 0.28	1.2 - 2.5
Frozen	100	8.0 ± 1.52	4.2 - 11.6	20.0 <sup>a</sup> ± 9.22	6.4 - 48.8	2.0 ± 0.33	1.4 - 2.8
Dried	100	5.7 ± 0.89	3.3 - 8.8	4.5 <sup>b</sup> ± 1.78	1.4 - 10.6	1.5 ± 0.29	1.0 - 2.4

N: Number of samples, Min: Minimum, Max: maximum, SE: Standard error. There is no statistical difference between those with the same superscript letters (p>0.05).

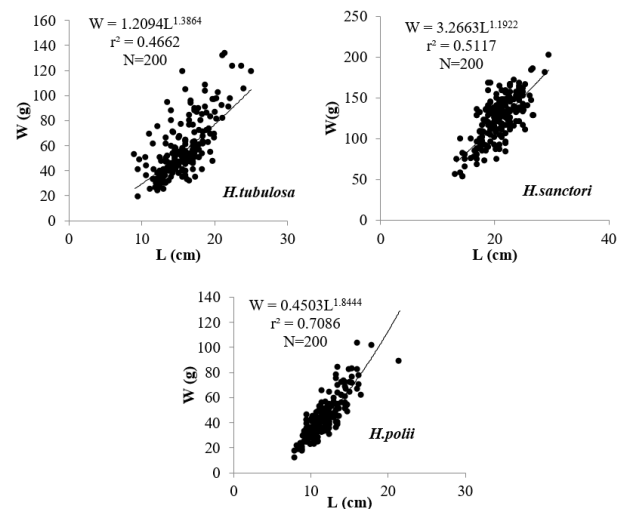
Relationships of BL - BW, FL - FW and DL - DW in *H. tubulosa* were represented with nonlinear r power models but those between BL and BT, FL and FT, and DL and DT by linear models. The highest correlation was between FL and FW with  $r^2 = 0.7857$ . Processed materials by boiling and freezing were more stable, which reflected to their better correlations. However, after drying, remarkable changes occur in size and thickness in the samples due to the water losses which was clearly observed poor relationship between DL and DT (Table 5).

suggesting that growth was negative allometric for three species ( $b < 3$ ).

**Table 3.** Parameters of gutted length - weight relationships of three sea cucumber species.

Species	N	a	b	Correlation
<i>H. tubulosa</i>	200	1.2094	1.3864	$r^2 = 0.4662$
<i>H. polii</i>	200	3.2663	1.1922	$r^2 = 0.5117$
<i>H. sanctori</i>	200	0.4503	1.8444	$r^2 = 0.7086$

N: number of samples, a and b: Regression parameters.



**Figure 2.** Gutted length - weight relationships of 3 sea cucumbers.

In the present study, weight losses after processing methods were recorded separately by species and length - weight and length - thickness relationships were tested in the resulting samples at each step.

**Holothuria tubulosa:** Loss of average size after boiling in *H. tubulosa* was from  $15.6 \pm 2.9$  cm to  $8.0 \pm 1.4$  cm with a percentage of 48.7, which was similar to that of freezing loss. Samples that were frozen after boiling shrunk to  $5.7 \pm 0.9$  cm by a decrease of 63.6% (Table 4).

**Table 5.** Parameters of relationships of boiled, frozen and dried samples of *H. tubulosa*.

Process	N	Relation model	a	b	Correlation
BL - BW	200	NL	0.2639	2.0506	$r^2 = 0.7276$
FL - FW	100	NL	0.2834	2.0212	$r^2 = 0.7857$
DL - DW	100	NL	0.1751	1.8345	$r^2 = 0.5977$
BL - BT	200	L	0.7817	0.1238	$r^2 = 0.3954$
FL - FT	100	L	0.7474	0.1534	$r^2 = 0.5011$
DL - DT	100	L	0.7462	0.1359	$r^2 = 0.1696$

BL: Boiled length, BW: boiled weight, FL: Frozen length, FW: Frozen weight, DL: Dried length, DW: Dried weight, BT: Boiled thickness, FT: Frozen thickness, DT: Dried thickness, N: number of samples, a and b: Regression parameters, NL: Nonlinear, L: Linear.

**Holothuria sanctori:** Average fresh gutted length of *H. sanctori* ( $20.8 \pm 3.01$  cm) decreased by 52.9% after boiling and 55.3% after freezing to  $9.8 \pm 1.2$  and  $9.3 \pm 1.1$  cm

**Table 6.** Mean weight and length of *H. sanctori* for each processing stage.

Process	N	Length (cm)		Weight (g)		Thickness (cm)	
		Mean±SE	Min - Max	Mean±SE	Min - Max	Mean±SE	Min - Max
Boiled	200	$9.8 \pm 1.17$	6.8 - 12.6	$40.4^a \pm 10.46$	13.0 - 65.0	$2.4 \pm 0.30$	1.5 - 3.0
Frozen	100	$9.3 \pm 1.13$	6.5 - 11.6	$39.0^a \pm 10.09$	17.0 - 57.5	$2.6 \pm 0.29$	1.9 - 3.6
Dried	100	$7.3 \pm 1.03$	4.7 - 9.3	$9.4^b \pm 2.77$	3.1 - 16.7	$2.2 \pm 0.33$	1.4 - 3.0

N: Number of samples, Min: Minimum, Max: maximum, SE: Standard error. There is no statistical difference between those with the same superscript letters ( $p>0.05$ ).

The highest correlation coefficient was observed between FL and FW with  $r^2 = 0.8739$ , as was in *H. tubulosa*. The relationship of FL - FW had the biggest b value (2.1570). The poorest relation was detected once again between DL and DT ( $r^2 = 0.1442$ ) (Table 7).

**Table 7.** Parameters of relationships of boiled, frozen and dried samples of *H. sanctori*.

Process	N	Relation model	a	b	Correlation
BL - BW	200	NL	0.3673	2.0455	$r^2 = 0.7675$
FL - FW	100	NL	0.3117	2.1570	$r^2 = 0.8739$
DL - DW	100	NL	0.2984	1.7202	$r^2 = 0.5960$
BL - BT	200	L	0.1203	1.1883	$r^2 = 0.2241$
FL - FT	100	L	0.1570	1.0968	$r^2 = 0.3781$
DL - DT	100	L	0.1225	1.3411	$r^2 = 0.1442$

BL: Boiled length, BW: boiled weight, FL: Frozen length, FW: Frozen weight, DL: Dried length, DW: Dried weight, BT: Boiled thickness, FT: Frozen thickness, DT: Dried thickness, N: number of samples, a and b: Regression parameters, NL: Nonlinear, L: Linear.

**Table 8.** Mean weight and length of *H. polii* for each processing stage.

Process	N	Length (cm)		Weight (g)		Thickness (cm)	
		Mean±SE	Min - Max	Mean±SE	N	Mean±SE	Min - Max
Boiled	200	$7.3 \pm 1.31$	3.5 - 10.7	$19.4^a \pm 8.68$	5.0 - 59.0	$1.9 \pm 0.27$	1.1 - 2.8
Frozen	100	$7.1 \pm 1.12$	4.9 - 10.3	$17.9^a \pm 7.39$	5.6 - 46.3	$2.1 \pm 0.28$	1.4 - 2.8
Dried	100	$6.1 \pm 1.16$	3.1 - 8.7	$5.0^b \pm 2.23$	1.5 - 14.1	$1.8 \pm 0.30$	1.0 - 2.5

N: Number of samples, Min: Minimum, Max: maximum, SE: Standard error. There is no statistical difference between those with the same superscript letters ( $p>0.05$ ).

**Table 9.** Parameters of relationships of boiled, frozen and dried samples of *H. polii*.

Process	N	Relation model	a	b	Correlation
BL - BW	200	NL	0.3894	1.9391	$r^2 = 0.7542$
FL - FW	100	NL	0.2740	2.1024	$r^2 = 0.6980$
DL - DW	100	NL	0.1374	1.9660	$r^2 = 0.8446$
BL - BT	200	L	0.1275	0.9321	$r^2 = 0.3808$
FL - FT	100	L	0.1599	0.9140	$r^2 = 0.4008$
DL - DT	100	L	0.1440	0.8990	$r^2 = 0.3087$

BL: Boiled length, BW: boiled weight, FL: Frozen length, FW: Frozen weight, DL: Dried length, DW: Dried weight, BT: Boiled thickness, FT: Frozen thickness, DT: Dried thickness, N: Number of samples, a and b: Regression parameters, NL: Nonlinear, L: Linear.

**Processing losses:** Regardless of the species studied in this research, average processing loss was 65.2% in frozen products and 90.9% in dried products. When expressed by species, the losses in frozen products were, 68.3, 67.7 and 59.5% for *H. tubulosa*, *H. sanctori* and *H. polii*, respectively, and in dried products, 91.3, 92.6 and 88.6 %, respectively (Table 10).

**Corrected fisheries data:** Considering that dried and frozen products represent 9.1 and 34.8% of gutted weight regardless of commercial sea cucumber species, total

respectively. The samples that were sun - dried lost 64.9% of their size and shrunk to  $7.3 \pm 1.0$  cm (Table 6).

The highest correlation coefficient was observed between FL and FW with  $r^2 = 0.8739$ , as was in *H. tubulosa*. The relationship of FL - FW had the biggest b value (2.1570). The poorest relation was detected once again between DL and DT ( $r^2 = 0.1442$ ) (Table 7).

**Holothuria polii:** *H. polii* is the smallest sea cucumber in the region. Average gutted length was  $11.8 \pm 2.0$  cm, which was down to  $7.3 \pm 1.3$  cm by a 38.1% of loss after boiling processes. The loss with further freezing reached to 39.8% and resulted in average length of  $7.1 \pm 1.1$  cm. However, further sun drying the samples increased the loss by 48.3%, which resulted in average size of  $6.1 \pm 1.2$  cm (Table 8).

A high correlation was found between FL and FW as in the other species but opposite to those species, in *H. polii* the strongest relation was observed for DL and DW ( $r^2 = 0.8446$ ). Notwithstanding, the highest “b” value was determined for FL and FW, as was the case for other species (Table 9).

production quantity of Turkey can be recalculated by years as can be seen in Table 11.

**Table 10.** Processing losses in frozen and dried products.

Species	N	Frozen products			
		Gutted W (g)	Frozen (W, g)	Product W (%)	W loss (%)
<i>H. tubulosa</i>	100	6298	1996	31.7	68.3
<i>H. sanctori</i>	100	12017	3881	32.3	67.7
<i>H. polii</i>	100	4421	1790	40.5	59.5
		Mean		34.8	65.2
		SE		4.9	4.9
Species	N	Dried products			
		Gutted (W, g)	Dried (W, g)	Product W (%)	W loss (%)
<i>H. tubulosa</i>	100	5160	448	8.7	91.3
<i>H. sanctori</i>	100	12781	941	7.4	92.6
<i>H. polii</i>	100	4461	507	11.4	88.6
		Mean		9.1	90.9
		SE		2.0	2.0

N: Number of samples, W: Weight, SE: Standard error

**Table 11.** Corrected sea cucumber production amounts by years.

Years	Dried (kg)	Frozen (kg)	Total (kg)	Corrected (gutted) (kg)
2008	789	32.880	33.669	103.153
2009	7.036	30.940	37.976	166.227
2010	16.203	80.980	97.183	410.756
2011	13.930	466.055	479.985	1.492.315
2012	27.479	420.165	447.644	1.509.338
2013	21.465	232.761	254.226	904.733
2014	23.585	224.000	247.585	902.854

2015	51.300	218.970	270.270	1.192.960
2016	74.654	306.229	378.883	1.700.342
2017	130.062	694.230	824.292	3.424.167
2018	141.841	801.744	943.585	3.862.554

2019	122.271	1.169.850	1.292.121	4.705.275
------	---------	-----------	-----------	-----------

## DISCUSSION

Growth of three sea cucumber species was a negative allometry ( $b < 3$ ), which is consistent with the findings of previous studies carried out in the same region (Table 12). In studies conducted other than the Aegean Sea, growth was also given as negative allometry (Venkataraman, 2007; Veronika et al., 2018; Ahmed et al., 2018; Siddique & Ayub, 2019). It is known that organism that are longer than transverse, such as sea cucumbers, show negative allometry ( $b < 3$ ) (Pauly, 1983). Although the number of samples in the present study was relatively small, correlation coefficients between gutted length and

weight data are in harmony with other studies (Table 12). Aydın (2020) reported higher "b" values for the same species and same area because of the large number of samples.

Average gutted weights obtained in the present study and former studies are shown in Table 13. The highest and lowest gutted weight for *H. tubulosa* was reported by Kazanidis et al. (2010) in Greek water and Dereli et al., (2016) in Turkish waters, respectively. This species has been commercially caught in Turkey for 30 years (Aydın, 2008) which can explain the reason of why larger individuals are found in Greece where no commercial sea cucumber fisheries are the case.

**Table 12.** Length - weight parameters of previous studies conducted in the region.

Species	N	b	r <sup>2</sup>	Area	References
<i>H. tubulosa</i> (GL - GW)	200	1.3864	0.4662	Aegean Sea	<b>This study</b>
<i>H. polii</i> (GL - GW)	200	1.1922	0.5117	Aegean Sea	<b>This study</b>
<i>H. sanctori</i> (EL - EW)	200	1.8444	0.7086	Aegean Sea	<b>This study</b>
<i>H. tubulosa</i> (GL - GW)	6414	1.7020	0.8330	Aegean Sea	Aydın, 2020
<i>H. polii</i> (GL - GW)	9086	1.8040	0.7120	Aegean Sea	Aydın, 2020
<i>H. tubulosa</i> (EL - EW)	598	1.4300	0.7000	Aegean Sea	Dereli et al., 2016
<i>H. polii</i> (EL - EW)	839	1.0500	0.4500	Aegean Sea	González - Wangüemert et al., 2014
<i>H. tubulosa</i> (EL - EW)	754	1.1400	0.4100	Aegean Sea	González - Wangüemert et al., 2014
<i>H. tubulosa</i> (L - EW)	314	0.8100	0.5800	Aegean Sea	Kazanidis et al., 2010
<i>H. sanctori</i> (EL - EW)	340	1.2900	0.7200	Aegean Sea	Aydın, 2013

**Table 13.** Average gutted weights of commercial sea cucumbers reported by studies conducted in the region.

Species	N	Mean W (g) (Min - Max)	References
<i>H. tubulosa</i>	200	57.3 (19.0 - 134.0)	<b>This study</b>
<i>H. tubulosa</i>	6414	66.34 (7.4 - 225)	Aydın, 2020
<i>H. tubulosa</i>	282	83.8 (25.0 - 159.5)	González - Wangüemert et al., 2016
<i>H. tubulosa</i>	598	49.9 (6.1 - 127)	Dereli et al., 2016
<i>H. tubulosa</i>	754	88.7 (30 - 211)	González - Wangüemert et al., 2014
<i>H. tubulosa</i>	314	108.4 (39.4 - 226.3)	Kazanidis et al., 2010
<i>H. tubulosa</i>	350	61.8 (20.3 - 164.4)	Vafeiadou et al., 2010
<i>H. polii</i>	200	44.4 (12.0 - 104.0)	<b>This study</b>
<i>H. polii</i>	9086	49.33 (6.9 - 135.0)	Aydın, 2020
<i>H. polii</i>	312	47.3 (19.8 - 79.1)	González - Wangüemert et al., 2016
<i>H. polii</i>	839	37.5 (17 - 84)	González - Wangüemert et al., 2014
<i>H. sanctori</i>	200	124.0 (54.0 - 203.0)	<b>This study</b>
<i>H. sanctori</i>	747	102.34 (33 - 185.9)	Aydın, 2020
<i>H. sanctori</i>	2032	18.1	Navarro et al., 2013
<i>H. sanctori</i>	340	100.5 (51 - 175.7)	Aydın, 2013

N: Number of samples, W: Weight, Min: Minimum, Max: Maximum.

Gutted weights of *H. polii* in the current study are within the range of literature data (Table 3). *H. sanctori*s generally active in the nights. They have an ability to secrete a netted fluid to protect themselves thanks to its cuvier organs when feeling in danger or under stress. Although they are relatively large, the divers did not prefer to collect this species because of this netting that fell into their hands during collection (Aydın, 2013). Yet, recent increase in demand for sea cucumber and commercial value has caused divers to collect this species since 2019. Therefore, since the stock of the species has never been

exploited, it is thought that their average weight is higher than other species.

Ram et al. (2016) reported the dried product percentages of gutted for 8 species in Fiji Island (Table 14). Purcell et al. (2009) found the remaining material after drying 11.6% for species of *Holothuria whitmaei*. Pardua et al. (2019) studied the drying loss of *H. scabra* in two regions of Philippines and found the product rate as 8.82% in Coron region and 6.19% in Balinao region (Table 14). In the present study, dried mass was 8.7% of gutted for *H. tubulosa*, 7.4% for *H. sanctori* and 11.4% for *H. polii*, being consistent with the literature findings. In a study

conducted by González - Wangüemert et al. (2019) in Aegean Sea, these yields were calculated as 15.36% for *H. polii* and 10.75% for *H. tubulosa*. The inconsistency of

these findings with those in the current study can be explained with differences in study regions and years.

**Table 14.** Average dried weights of commercial sea cucumbers reported by studies conducted.

Species	Dried product (%)	Location	References
<i>Holothuria scabra</i>	8.1	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Actinopyga lecanora</i>	9.5	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Actinopyga mauritiana</i>	5.7	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Actinopyga miliaris</i>	6.3	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Bohadschia argus</i>	3	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Holothuria fuscogilva</i>	10.6	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Holothuria whitmaei</i>	11	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Thelenota pineapple</i>	6.5	Fiji Island	Ram et al. 2016
<i>Holothuria whitmaei</i>	11.6	-	Purcell et al. 2009
<i>Holothuria scabra</i>	8.82	Coron Region	Pardua et al. 2019
<i>Holothuria scabra</i>	6.19	Balınao Reg.	Pardua et al. 2019
<i>Holothuria tubulosa</i>	10.75	Aegean Sea	González - Wangüemert et al. 2019
<i>Holothuria polii</i>	15.36	Aegean Sea	González - Wangüemert et al. 2019
<i>Holothuria tubulosa</i>	8.7	Ildır Bay	<b>This study</b>
<i>Holothuria sanctori</i>	7.4	Ildır Bay	<b>This study</b>
<i>Holothuria polii</i>	11.4	Ildır Bay	<b>This study</b>

Based on the yields of dried and frozen products (9.1% and 34.8% respectively), total gutted production caught from the sea were recalculated. The corrected data show that production amount in 2008 with 103,153 kg reached to 4,705,275 kg in 2019 by a 45.6 fold - increase. The Ministry started quota implementation with circular as of January 2020 by taking this increase into consideration. 2020 quota amount has been determined as 2,500,000 kg (as gutted weight) which was shared to companies considering the export rates of previous years (BSGM, 2019). Sea cucumber stock management in Turkish waters as of 2020 can be summarized as the quota application, prohibition of fisheries during reproduction period and regional prohibitions.

Sea cucumber trade in all countries is made in the form of dried, frozen, salted etc. Although there are data on the most traded species, there are limited studies on the Mediterranean species that are gaining importance in the sector. Strict management regulations related to sea cucumber fisheries in the Mediterranean basin has been made firstly for Turkish stocks. The quota regulation put into practice by arrangement in 2020 is a first for management of the Mediterranean stocks.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

We greatly appreciate General Directorate of Fisheries and Aquaculture, The Ministry of Agriculture and Forestry for their great contributions.

#### REFERENCES

Ahmed, Q., Poot-Salazar A., Ali, Q.M. & Bat, L. (2018). Seasonal variation in the length-weight

relationships and condition factor of four commercially important sea cucumbers species from Karachi Coast-Northern Arabian Sea. *Natural and Engineering Sciences*, 3(3), 265-281.

Aydın, M. (2008). The commercial sea cucumbers fishery in Turkey. *SPC Beche de mer Information Bulletin*, 28, 40-43.

Aydın, M. (2013). Some biological characteristics of the sea cucumber *Holothuria (Platyperona) sanctori* Delle Chiaje, 1823 (Echinodermata: Holothuroidea). *Biological Diversity and Conservation*, 6(3), 153-159.

Aydın, M. (2016). Sea cucumber (holothuroidea) species of Turkey. *Turkish Journal of Maritime and Marine Sciences*, 2(1), 49-58.

Aydın, M. (2017). Present status of the sea cucumber fishery in Turkey. *SPC Beche de Mer Information Bulletin*, 37, 30-34.

Aydın, M. (2020). Length-weight relationships and condition factor of four different sea cucumber species in the Aegean Sea. *Journal Anatolian Environment and Animal Sciences*, 5(1), 80-85. DOI: 10.35229/jaes.677940

Aydın, M. & Erkan, S. (2015). Identification and some biological characteristics of commercial sea cucumber in the Turkey coast waters. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 3(1), 260-265.

Aydın, M., Gürlek, M., Samyn, Y., Ergüden, D. & Turan, C. (2019). First record of a lessepsian migrant: the sea cucumber *Holothuria (Theelothuria) hamata* Pearson, 1913. *Zootaxa*, 4551(1), 94-100.

Aydın, M., Karadurmuş, U. & Tunca, E. (2014). Morphometric aspects and growth modeling of exotic bivalve blood cockle *Scapharca inaequivalvis* from the Black Sea, Turkey. *Biologia*, 69(12), 1707-1715.

Aydın, M., Sevgili, H., Tufan, B., Emre, Y. & Köse, S. (2011). Proximate composition and fatty acid profile of three different fresh and dried commercial sea cucumbers from Turkey.



- International Journal of Food Science & Technology*, **46**(3), 500-508. DOI: [10.1111/j.1365-2621.2010.02512.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02512.x)
- Aydın, M., Tunca, E. & Esen-Ersoy, N. (2020).** Morphometric Aspects and Growth Parameters of the Wedge Clam (*Donax trunculus*) of the Black Sea, Turkey. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**(1), 11-18. DOI: [10.35229/jaes.637729](https://doi.org/10.35229/jaes.637729)
- BSGM. (2016).** General Directorate of Fisheries and Aquaculture, Fisheries regulations, 68pp.
- BSGM. (2019).** General Directorate of Fisheries and Aquaculture, Circular No: 2019/3,7pp.
- Conand, C. (1990).** *The fishery resources of Pacific island countries. Part 2: Holothurians.* FAO, Rome, 143pp.
- Dereli, H., Culha, S.T., Culha, M., Özalp, B.H. & Tekinay, A.A. (2016).** Reproduction and population structure of the sea cucumber *Holothuria tubulosa* in the Dardanelles Strait, Turkey. *Mediterranean Marine Science*, **17**(1), 47-55. DOI: [10.12681/mms.1360](https://doi.org/10.12681/mms.1360)
- Gilliland, P.M. (1993).** The skeletal morphology, systematics and evolutionary history of holothurians *Special Papers in Paleontology* **47**(1), 147.
- González-Wangüemert, M., Valente, S., Henriques, F., Domínguez-Godino, J.A. & Serrãoa, E.A. (2016).** Setting preliminary biometric baselines for new target sea cucumbers species of the NE Atlantic and Mediterranean fisheries. *Fisheries Research*, **179**, 57-66. DOI: [10.1016/j.fishres.2016.02.008](https://doi.org/10.1016/j.fishres.2016.02.008)
- González-Wangüemert, M., Aydın, M. & Chantal, C. (2014).** Assessment of sea cucumber populations from Aegean Sea (Turkey): First insights to sustainable management of new fisheries. *Ocean & Coastal Management* **92**, 87-94. DOI: [10.1016/j.ocecoaman.2014.02.014](https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2014.02.014)
- González-Wangüemert, M., Domínguez-Godino, J.A. & Aydın, M. (2019).** Profitability of the Mediterranean and NE Atlantic new target sea cucumber species: some repercussions for their fisheries management. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, **48**(11), 1715-1719.
- Kazanidis, G., Antoniadou, C., Lolas, A.P., Neofitou, N., Vafidis, D. Chintiroglou, C. & Neofitou, C. (2010).** Population dynamics and reproduction of *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea: Echinodermata) in the Aegean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* **90**(05), 895-901. DOI: [10.1017/S0025315410000251](https://doi.org/10.1017/S0025315410000251)
- Navarro, P.G., García-Sanz, S. & Tuya, F. (2013).** Patrones de abundancia y talla de *Holothuria sanctori*, *Holothuria mammata* y *Holothuria arguinensis* (Echinodermata: Holothuroidea) en la isla de Gran Canaria, Atlántico oriental. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* **48**(2), 273-284. DOI: [10.4067/S0718-19572013000200007](https://doi.org/10.4067/S0718-19572013000200007)
- Pardua, S.N., Lapitan, E.L.O., Deanon, J., Duque, J.A.C., Pangan, R.S. & Yaptenco, K.F. (2018).** Product recovery after processing and drying of Philippine Sandfish (*Holothuria scabra*) into trepang. *Philippine Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, **14**, 31-44.
- Pauly, D. (1983).** *Some simple methods for the assessment of tropical fish stocks.* FAO, Rome, 52pp.
- Purcell, S.W., Gossium, H. & Agudo, N.S. (2009).** Changes in weight and length of sea cucumbers during conversion to processed beche-de-mer: filling gaps for some exploited tropical species. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin*, **29**, 3-6.
- Ram, R., Chand, R. V., Zeng, C. & Southgate, P. (2016).** Recovery rates for eight commercial sea cucumber species from the Fiji Islands. *Regional Studies in Marine Science*, **8**(1), 59-64. DOI: [10.1016/j.rsma.2016.09.003](https://doi.org/10.1016/j.rsma.2016.09.003)
- Siddique, S. & Ayub, Z. (2019).** To estimate growth function by the use of SLW Index in the sea cucumber *Holothuria arenicola* (Holothuroidea: Echinodermata) of Pakistan (Northern Arabian Sea). *Thalassas: An International Journal of Marine Sciences* **35**(1), 123-132.
- TURKSTAT. (2020).** "Sea cucumber trade", <https://www.tuik.gov.tr> accessed online 13 April 2020.
- Vafeiadou, A.M., Antoniadou, C., Vafidis, D., Fryganiotis, K. & Chintiroglou, C. (2010).** Density and biometry of the exploited holothurian *Holothuria tubulosa* at the Dodecanese, South Aegean Sea. *Rapport Commission international Mer Méditerranée*, **39**, 661pp.
- Venkataraman, C. (2007).** Present status of population of holothurians in India. FAO, Rome, 58pp.
- Veronika, K., Edrissinghe, U., Sivashanthini, K. & Athauda, A.R.S.B. (2018).** Length-weight relationships of four different sea cucumber species in North-East coastal region of Sri Lanka. *Tropical Agricultural Research* **29**(2), 212-217. DOI: [10.4038/tar.v29i2.8290](https://doi.org/10.4038/tar.v29i2.8290)



## Comparison of Heavy Metal Absorption of Some Algae Isolated From Altınapa Dam Lake (Konya)

Numan Emre GÜMÜŞ\* Baran AŞIKKUTLU<sup>2</sup> Hatice Banu KESKİNKAYA<sup>2</sup> Cengiz AKKÖZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Karamanoğlu Mehmetbey University, Scientific and Technological Research and Application Center, 70200 Karaman, Turkey

<sup>2</sup>Selçuk University, Department of Biology, Faculty of Science, Campus, 42100 Konya, Turkey

Received: 13 Ekim 2020

Accepted: 11 Ocak 2021

Published: 31 Mart 2021

How to cite: Gümüş, N.E., Aşikkutlu, B., Keskin kaya, H.B. & Akköz, C. (2021). Comparison Of Heavy Metal Absorption Of Some Algae Isolated From Altınapa Dam Lake (Konya). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 50-56.

Atıf yapmak için: Gümüş, N.E., Aşikkutlu, B., Keskin kaya, H.B. & Akköz, C. (2021). Altınapa Baraj Gölü'nden (Konya) İzole Edilen Bazı Alglerin Ağır Metal Absorpsiyonlarının Karşılaştırılması. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 50-56.

\*id: <https://orcid.org/0000-0001-8275-3871>  
id: <https://orcid.org/0000-0003-2532-5517>  
id: <https://orcid.org/0000-0002-4441-3603>  
id: <https://orcid.org/0000-0003-3268-0189>

**\*Corresponding author's:**

Numan Emre GÜMÜŞ  
Karamanoğlu Mehmetbey University,  
Scientific and Technological Research and  
Application Center, 70200 Karaman, Turkey.  
✉: [numanemregumus@kmu.edu.tr](mailto:numanemregumus@kmu.edu.tr)

**Abstract:** Today, due to the intense pollution in water resources, clean water shortage is experienced in most regions. In order to remove the pollution from waters, many studies are carried out using algae with high metal absorption capacity. In our study, benthic algae samples from different habitats (epipellic, epiphytic and epilithic) were taken from the Altınapa Dam Lake in Konya, in order to study the potentials of heavy metal removal. Some microalgae were isolated from the samples and heavy metal absorption capacities were examined among the pure cultures obtained. Biosorption properties were tried to be determined in samples taken at 5, 10, 20, 45, 60, 90 and 120 minutes by exposing *Chlorochytrium paradoxum*, *Haematococcus lacustris* and *Scenedesmus circumfusus* species to heavy metals of Cu and Mn. *Scenedesmus circumfusus* species reached the best absorption capacity for both Cu and Mn metals. According to this research, the algae we studied are of the opinion that they can be used to increase the efficiency and selectivity of heavy metal biosorption.

**Keywords:** Algae, biosorption, heavy metal, isolation.

## Altınapa Baraj Gölü'nden (Konya) İzole Edilen Bazı Alglerin Ağır Metal Absorpsiyonlarının Karşılaştırılması

**Öz:** Günümüzde su kaynaklarında meydana gelen yoğun kirlilik nedeniyle, çoğu bölgede temiz su sıkıntısı yaşanmaktadır. Sularda oluşan kirliliğin giderilmesi için ağır metal absorpsiyon kapasitesi yüksek olan alglerin kullanıldığı birçok çalışma yapılmaktadır. Araştırmamızda ağır metal giderimi potansiyellerini çalışabilmek için, Konya'da bulunan Altınapa Baraj Gölü'nden değişik habitatlardan (epipelik, epifitik ve epilitik) bentik alg örnekleri alınmıştır. Alınan örneklerden bazı algler izole edilmiş ve elde edilen saf kültürler arasında ağır metal absorpsiyon kapasiteleri incelenmiştir. *Chlorochytrium paradoxum*, *Haematococcus lacustris* ve *Scenedesmus circumfusus* türleri Cu ve Mn ağır metallerine maruz bırakılarak 5. 10. 20. 30. 45. 60. 90 ve 120. dakikalarda alınan örneklerde biyosorpsiyon özellikleri tespit edilmeye çalışılmıştır. Hem Cu Hem Mn metallerinde en iyi absorblama kapasitesine *Scenedesmus circumfusus* türü ulaşmıştır. Bu araştırmaya göre; çalıştığımız algler, ağır metal biyosorpsiyonunun etkinliğini ve seçiciliğini artırmak için kullanılabilir olduğu düşüncesindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** Ağır metal, alg, biyosorpsiyon, izolasyon.

**\*Sorumlu yazar:**  
Numan Emre GÜMÜŞ  
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi,  
Bilimsel ve Teknolojik Araştırma ve  
Uygulama Merkezi, 70200 Karaman,  
Türkiye.  
✉: [numanemregumus@kmu.edu.tr](mailto:numanemregumus@kmu.edu.tr)

## INTRODUCTION

Surface water sources such as lakes, streams, dams and agricultural waters; It is very important for public health, the continuity of the aquatic ecosystem and agricultural activities (Noori et al., 2018). Trace element pollution in the aquatic environment has become a global concern due to its potential harmful effects on aquatic ecosystems and human health. Heavy metals can contaminate water bodies through natural deposits, mining waste, industrial and agricultural activities. The water contaminated with trace metals may not be suitable for human and animal drinking, irrigation, protection of aquatic ecosystems, recreation and aquaculture (Kibria, 2016).

Wastes generated in regions with high industrial and urban development are important sources of pollution for aquatic environments (Çoğun & Kargın, 2020). Water pollution, which has a negative impact on the quality of life of the society, is becoming threatening to human health day by day (Gemici et al., 2019). To provide a locally controlled water supply, wastewater recycling offers great environmental benefits. Recycling of water prevents the consumption of water from ecosystems and the reduction of environmental pollution and the accumulation of pollutants in our ecosystem. With the scarcity of fresh water resources and the pollution in the ecosystem, industrial wastewater increases the importance of wastewater treatment. Extensive research is being conducted to develop an effective technology to overcome the toxicity and negative environmental effects of heavy metals and ionic forms (Nazal, 2019). Algae are eutrophic and eukaryotic organisms that play an important role in the food, pharmaceutical, cosmetic, fuel and textile industries. These are an essential part of our ecosystem and can help control the growing pollution problem. It is known that algae are a good indicator of pollution level in aquatic ecosystems (Dora et al., 2010). These biological properties make algae a very good "early warning system". Moreover, green algae have also been reported to be suggested for phytoremission of some elements (Gomes & Asaeda 2013; Olal, 2016; Sahu et al., 2020). Algae can be used to improve the efficiency and selectivity of heavy metal biosorption (Cheng et al., 2019). With the excessive contamination of aquatic ecosystems with human-induced pollutants such as heavy metals and the increase in potential toxic effects of these pollutants on living things, studies on metal accumulation in algae gain importance day by day. Due to the fact that algae are important parts of the aquatic food web, the number of studies to evaluate the toxic damage of heavy metals to these creatures has increased in recent years (Şentürk, 2018a).

The health effects of various heavy metals have raised awareness of the health risk associated with heavy metals worldwide. For this reason, researchers around the

world have worked on different technologies to remove heavy metals from the environment. Biosorption has emerged as a promising alternative to traditional methods (Richards et al., 2019). In addition to biosorption, different physicochemical mechanisms include microprecipitation, chelation, ion exchange, and physical adsorption. Many studies are trying to identify suitable biosorbents that can effectively remove heavy metals. These biosorbents typically include agricultural waste, plant-based adsorbents, algae, fungi, and bacteria (Poo et al., 2018). Industrial and urban wastewater can be used as a food source for algae production. Wastewater is an ideal environment for algae growth as they contain high amounts of nitrogen and phosphorus (Knezevic, 2016).

Among the biosorbents, algae-based biosorbents have been the focus of attention due to their renewability, superior uptake capacity, absence of toxic waste generation, low cost, time and energy savings, year-round occurrence, ease of use, and great abundance in the sea. Following the biosorption process, the remaining algal biomass can be dumped into municipal landfills with a much lower environmental footprint (Yu et al., 2017; Poo et al., 2018).

In this study, it is aimed to compare the copper (Cu) and Manganese (Mn) metal absorption capacities of the microalgae samples taken from Altınapa Dam Lake in Konya. The advantages of algae such as having high metal holding capacity from wastewater and being economical and easily available are taken into consideration. *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi, *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) G.S. West, *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrons) Rostafinski microalgae species obtained through isolation from the samples we took from Altınapa Dam Pond were exposed to heavy metal solutions and metal uptake ability in waste water treatment was investigated.

## MATERIAL AND METHOD

**Sampling, Species Isolation, Cultural Conditions and Species Identification:** Samples were taken from Altınapa Dam Lake in May and June 2019. Sediment, plant and stone samples taken from the benthic region of Altınapa Dam Lake were brought to the laboratory under appropriate conditions in lake water with sterile bottles. After, plant and stone samples were washed with distilled water, the samples were taken into a petri dish by scraping.

The preparation for morphological determination was prepared and examined directly under a microscope. For the isolation process, the dilution method was applied to obtain monocultures from mixed samples scraped into the petri dish (Rippka, 1988). In this method, mixed cultures taken from natural habitats were placed in a petri dish and diluted with sterile water. This dilution was continued until the cells were freely visible in one form in the mixture. Then

each cell was isolated individually by working under an inverted microscope with the help of a pasteur pipette. Once single cells were obtained, the cells were transferred to BG-11 medium used for growth. The pH of the medium was adjusted to 6.8. Cultures were grown at 25 ° C under a fluorescent light intensity of 3000 lux in sterile shake flasks containing 100 mL of BG-11. It was incubated for 15-20 days in a suitable incubator for photosynthesis on a 12 hour light and 12 hour dark cycle. Then cell numbers, cell layouts and cell shapes were checked. Morphological characterization Prescott, (1973) and John et al., (2002) methods.



Figure 1. Satellite image of Altınapa Dam Lake.

**Heavy Metal Absorption Measurements of Cultured Species:** Distilled water of the appropriate pH value was used for the solution in which the algae will be studied, and a buffer solution was prepared to adjust the pH of the environment. An appropriate amount of undissolved MnSO<sub>4</sub> (Merck) and CuSO<sub>4</sub> (Merck) was used to prepare the copper and manganese stock solution (1000 mg/L). It was mixed with the Britton-Robinson (B-R) buffer solution to make the stock solution suitable. In order to prepare the Britton-Robinson (BR) buffer solution, 2.3 mL of glacial acetic acid, 2.7 mL of phosphoric acid and 2.4720 g of boric acid are added to 1 liter of water and 100 ml of this mixture is added to 2M NaOH and the pH of the stock solution is 2.0. and between 8.0 (Inam & Toprak, 2005). Experimental groups were formed by taking 100 ml of algae cultures into flasks. In these experimental groups formed from live algae cultures, the pH amounts were fixed to pH 7.04 in the Manganese test and to 6.36 in the Copper test. pH measurements were made with a Hach-Lange brand pH meter.

Measurements were made at 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes. At each measurement, 15 ml of algae culture was taken and filtered on Whatman GF / C branded filter paper with a pore opening of 0.125 µm, and heavy metals in this filtrate were measured in the ICP-OES device.

The formula for the retention efficiency of metals is given below (König-Peter et al., 2015).

$$\% \text{ removal efficiency} = \frac{C_o - C_{\text{remaining}}}{C_o} * 100$$

$C_o$ : Origin metal concentration (mg/L)

$C_{\text{remaining}}$ : Metal concentration remaining in solution at the end of the process (mg/L)

Table 1. Technical information about the device.

ICP-OES working conditions	
Device	ICP-OES (Varian-Vista, Australia)
RF power	0.7-1.5 kW (1.2-1.3 kW for axial)
Plasma gas flow rate (Ar)	10.5-15 l/min (radial) 15 (axial)
Auxiliary gas flow rate (Ar)	1.5''
Detection height	5-12 mm
Copying and reading time	1-5 s (max, 60 s)
Copying	3 s (max, 100 s)

The wavelengths of the elements measured in the device are Cu 327.395 nm and Mn 257.610 nm, respectively. The graphs of the statistical analysis showing the Cu and Mn absorption capacities of the algae and their removal efficiency were created in the SPSS 21 program.

## RESULTS

To calculate the level of Cu and Mn absorption, all three experimental groups were prepared in the same way. 15 ml samples were taken for each measurement from three separate solutions prepared in *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi, *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) G.S. West, *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski species isolated from Altınapa Dam Lake and filtered through filter paper. The samples were taken at 5, 10, 20, 30, 45, 60, 90 and 120. minutes and measurements were performed.

Copper; highly toxic to fish, invertebrates and amphibians. It can reduce the growth of aquatic organisms such as fish and damage the gill and kidney. Cu is an essential trace element for humans, but high levels of Cu or Cu poisoning can cause liver cirrhosis (liver diseases) and, in extreme cases, death of humans (Kibria, 2016).

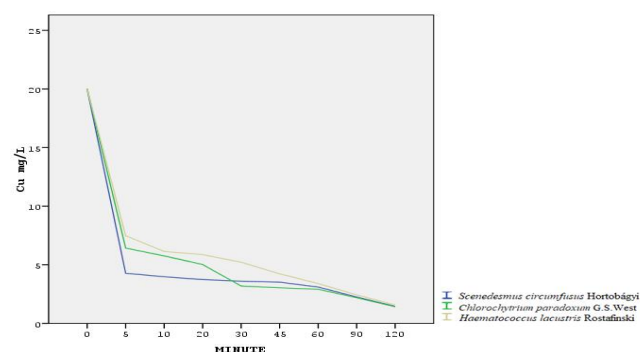


Figure 2. Cu absorption capacity of algae.

Cu element absorption capacities of algae are given in Table 2. In *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi, it was found to be 4.28 mg/L, 3.98 mg/L, 3.74 mg/L, 3.6 mg/L, 3.52 mg/L, 3.1 mg/L, 2.25 mg/L and 1.45 mg/L respectively. *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) G.S. West species 6.43 mg/L, 5.76 mg/L, 5.02 mg/L, 3.19 mg/L, 3.04 mg/L, 2.91 mg/L, 2.19 mg/L ve 1.42 mg/L' dir. Cu was found to be 6.43 mg/L, 5.76 mg/L, 5.02 mg/L, 3.19 mg/L, 3.04 mg/L,

2.91 mg/L, 2.19 mg/L and 1.42 mg/L respectively Chlorochytrium paradoxum (G.A.Klebs) G.S.West. Copper element in *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans)

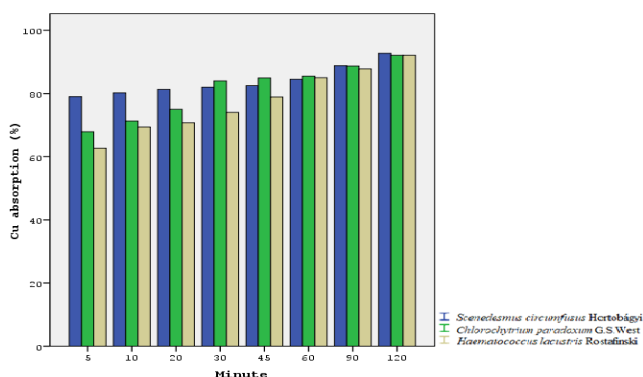
Rostafinski species 7.48 mg/L, 6.14 mg/L, 5.87 mg/L, 5.22 mg/L, 4.23 mg/L, 3.4 mg/L, 2.43 mg/L and 1.57 mg/L (Table 2).

**Table 2.** Algae Mn and Cu element absorption capacity (mg/L).

		0'	5'	10'	20'	30'	45'	60'	90'	120'
S.C.	Mn	48,24	40,63	29,35	20,74	18,57	17,44	16,32	16,01	14,45
	Cu	20,02	4,28	3,98	3,74	3,6	3,52	3,1	2,25	1,45
C.P.	Mn	48,24	43,17	38,68	29,64	29,08	28,53	27,11	26,64	25,58
	Cu	20,02	6,43	5,76	5,02	3,19	3,04	2,91	2,19	1,42
H.L.	Mn	48,24	45,09	40,91	32,26	31,82	30,27	29,91	29,56	28,98
	Cu	20,02	7,48	6,14	5,87	5,22	4,23	3,4	2,43	1,57

S.C.: *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi C.P.: *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) G.S.West H.L.: *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski.

The highest uptake was seen at 5 minutes in copper-added algae cultures. *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi took the heavy metal in the environment with 79%. All species have reached absorption capacities close to each other. The retention efficiency of all three algae reached 92% after 120 minutes (Figure 3).

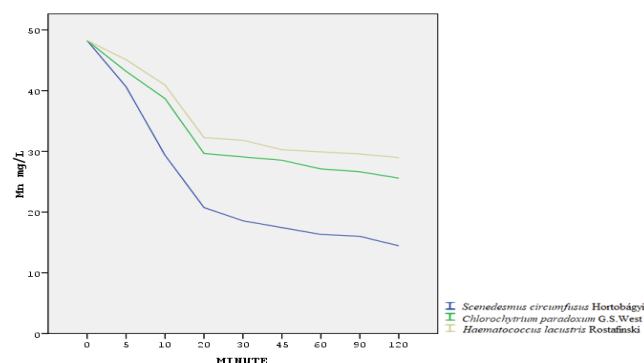


**Figure 3.** Cu retention efficiency of algae over time (%).

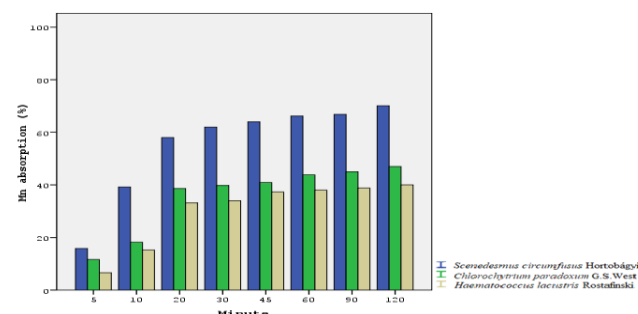
It is used in conjunction with aluminum and copper alloys as a component in the manganese material industry and steel production. Manganese dissolves into water as a result of various atmospheric events found naturally in soil and sedimentary masses. It is found in sediments at the bottom of lentic systems and passes from sludge to water in case of a reducing environment. Increasing manganese in water increases the turbidity of the water and the number of bacteria in it, and spoils the taste of the water. Among the discomfort caused by manganese, neurological disorders, weakening of joint and muscle tissue control, respiratory problems are seen (Bradl, 2005; Gürbüz, 2005; Kaptan, 2014, Gümüş & Akköz, 2020).

Mn element absorption capacities of algae are given in Table 3. In *Scenedesmus circumfusus*, it was found to be 40.63 mg/L, 29.35 mg/L, 20.74 mg/L, 18.57 mg/L, 17.44 mg/L, 16.32 mg/L, 16.01 mg/L and 14.45 mg/L respectively. Mn was found to be 43.17 mg/L, 38.68 mg/L, 29.64 mg/L, 29.08 mg/L, 28.53 mg/L, 27.11 mg/L, 26.64 mg/L and 25.58 mg/L, respectively in *Chlorochytrium paradoxum*. In *Haematococcus lacustris*, it was determined as 45.09 mg/L, 40.91 mg/L, 32.26 mg/L, 31.82

mg/L, 30.27 mg/L, 29.91 mg/L, 29.56 mg/L and 28.98 mg/L respectively (Table 2).



**Figure 4.** Mn absorption capacity of algae.



**Figure 5.** Mn retention efficiency of algae over time (%).

The algae cultures with added manganese have the highest intake in all three species 30 minute has also been seen. Adhesion efficiency reached 70% in *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi species, 47% in *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) species, and 40% in *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski species after 120 minutes (Figure 5). Manganese-added algae cultures could not reach the absorption capacity of copper-added algae cultures in all three species.

## DISCUSSION

In the biosorption process, obtaining maximum efficiency with minimum biosorbent is important in terms of ease of operation, cost and duration. Biosorption method can be recommended as an easy method with its applicability to metal removal from wastewater compared

to other methods, its suitability to the biological environment, being effective, economical and applied (Şentürk & Yıldız, 2018a). Especially algae have come to the fore in recent years.

Gokhale et al., (2008) reported that Cr (VI) ion was adsorbed around 50% in the first 5 minutes in *S. platensis*. In our study, Cu metal was found to be above 60% in all three algae species.

In their study by Şentürk & Yıldız, (2018a), the average retention efficiency of *C. vulgaris* for Cu and Mn was 87-95% and 6-56%, respectively. These results are consistent with the algae in this study Cu and Mn retention yields. It shows that manganese and copper in the environment are taken up by two algae and that heavy metals are stored in cell components or specific metal binding proteins.

Elmacı et al., (2005) investigated the biosorption of dried *Chara*, *Cladophora* and *Chlorella* species in diluted solutions of Zn, Cd, Co and remozal Turkish-G dyestuff and it was found that these three species could be used in heavy metal removal. In the other study, the dry mass, immobilized living and heat inactivated *Oscillatoria* sp. When the Cd heavy metal removal of the species is examined, immobilized living *Oscillatoria* sp. H1 showed the highest biosorption capacity compared to dry mass and inactive *Oscillatoria* (Katircioğlu et al., 2008)

Karaca, (2008) measured the heavy metal biosorption capacities of different algae species in water, and *Oocystis* sp. was found to be the algae species with the highest absorption capacity after *Dunaliella salina*.

In a similar study, Terry & Stone, (2002) evaluated the biosorption using *Scenedesmus abundans* in waters contaminated with Cu and Cd. In this study, *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi species performed better biosorption.

Considering the results of their study, Şentürk & Yıldız, (2018b) revealed that *Chlorella* and *Scenedesmus* cells are effective adsorbents in removing four heavy metals, especially  $Cu^{+2}$  ions from aqueous solutions, due to the high efficiency of Cu adsorption. The results of these reports were found to be consistent with the findings obtained in our study.

Akköz et al., (2013) examined the Cd (II) biosorption capacities in their study. They found that the Cd absorption capacity of *Oocystis solitaria* species was higher than that of *Scenedesmus quadricauda* species.

As a result of the measurements, it was seen that the Mn absorption capacity of *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi species was higher than *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) G.S.West, *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski species. As a result, *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi species was

found to be more useful in heavy metal removal from industrial wastewater.

The results we obtained in this study, Yong et al., (1997) shows that the effect of Cu accumulation in *Scenedesmus quadricauda* increases depending on the concentration, and Yan & Pan, (2002) in *Scenedesmus obliquus* algae are rapidly absorbed by the algae of Cu, Zn and Cd.

Studies show that the biosorption capacity increases with increasing atomic number (Akçelik, 2008; Özer & Özer, 2003). The atomic numbers of the Cu (II) and Pb (II) ions are  $^{29}Cu > ^{25}Mn$ . According to the data of our study, it can be said that the biosorption capacity increases with increasing atomic number.

Akköz et al., (2013) reported that heavy metal storage levels may vary among algae species. Similar results were observed in the copper deposition in *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi cells, and these results suggest that manganese and copper in the environment are constantly absorbed by two algae species and heavy metals are stored in cellular components or special metal binding proteins.

## CONCLUSION

In this study, it has not been studied for longer periods for Cu and Mn because of the stabilization of adsorption after 120 minutes. Using such creatures to purify heavy metals from water systems is much more convenient than other methods in terms of protecting the environment and minimizing side effects. Researching new approaches to removing heavy metals from wastewater, determining the heavy metal absorption capacity of different biological materials will contribute to technologies that do not harm the environment.

In particular, microalgae are beneficial in the elimination of various areas contaminated with inorganic nutrients and heavy metals. For this reason, it would be appropriate to use 3 algae species used in the study as a biosorbent to remove heavy metal from water.

As a result of this study, it has been determined that *Scenedesmus circumfusus* Hortobágyi, *Chlorochytrium paradoxum* (G.A.Klebs) G.S.West, *Haematococcus lacustris* (Girod-Chantrans) Rostafinski species have positive results in the removal of heavy metals in the laboratory environment, so they can be used in this field. It has been determined that these algae can be useful bioremediators for removing pollutants from wastewater.

## ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thanks BAP (Coordination of Scientific Researching Projects) Foundation of Selcuk

University for financial support (Project number 18401076).

## REFERENCES

- Akçelik, Ö. (2008).** Ağır metallerin *Saccharomyces cerevisiae* mikroorganizmasıyla biyosorpsiyonunun ortam koşullarına bağlı olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 229s.
- Akköz, C., Öztürk, B.Y. & Aşıkutlu, B. (2013).** Removal of cadmium (II) ion from aqueous system by dry biomass, live and heat-inactivated *Scenedesmus quadricauda* isolated from fresh water (Apa Dam Lake). *Journal of Applied Biological Sciences*, 7(2), 54-56.
- Bradl, H. (2005).** *Heavy metals in the environment: origin, interaction and remediation*, Academic Press, 269p.
- Cheng, S.Y., Show, P.L., Lau, B.F., Chang, J.S. & Ling, T.C. (2019).** New prospects for modified algae in heavy metal adsorption. *Trends in Biotechnology*, 37(11), 1255-1268. DOI: [10.1016/j.tibtech.2019.04.007](https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2019.04.007)
- Dora, S.L., Maiti, S.K., Tiwary, R.K. & Anshumali, A. (2010).** Algae as an indicator of river water pollution- a review. *The Bioscan*, 2, 413-422.
- Çoğun, H.Y. & Kargın, F. (2020).** Cyprinus carpio'da Bakırın Solungaç Dokusunda Birikimi ve Na/K İyonDüzeylerine Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 5(3), 313-317. DOI: [10.35229/jaes.749347](https://doi.org/10.35229/jaes.749347)
- Elmacı, A., Yonar, T., Özenin, N. & Türkoğlu, H. (2005).** Zn (II), Cd (II), Co (II) ve Remazol Turkish Blue-G boyar maddesinin sulu çözeltilerinde kurutulmuş *Chara* sp., *Cladophora* sp. ve *Chlorella* sp. türleri ile biyosorpsiyonun araştırılması. *Ekoloji*, 14(55), 24-31.
- Gemici, B.T., Yücedağ, C., Karakoç, E. & Algur, D. (2015).** Kuyu suyunda bazı kalite parametrelerinin belirlenmesi: Bartın örneği. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1), 18-23.
- Gokhale S.V., Jyoti K.K. & Lele S.S. (2008).** Kinetic and equilibrium modeling of chromium (VI) biosorption on fresh and spent *Spirulina platensis/Chlorella vulgaris* biomass. *Bioresource Technology*, 99(9), 3600-3608. DOI: [10.1016/j.biortech.2007.07.039](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.039)
- Gomes, P. I. & Asaeda, T. (2013).** Phytoremediation of heavy metals by calcifying macro-algae (*Nitella pseudoflabellata*): implications of redox insensitive end products. *Chemosphere*, 92, 1328-1334. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2013.05.043](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.05.043)
- Gümüş, N.E. & Akköz, C. (2020).** Eber gölü (Afyonkarahisar) su kalitesinin araştırılması. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 6(2), 153-163. DOI: [0.17216/limnofish.638567](https://doi.org/10.17216/limnofish.638567)
- Gürbüz, B. (2005).** Çıldır Gölü'nde avlanan Tathısu kefalı [*Leuciscus cephalus* (Linnaeus, 1758)] ve Bıyıklı balıklarda [*Barbus plebejus lacerta* (Bonaparte, 1832)] bazı ağır metallerin derişim düzeylerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars, 61s.
- Inam, R. & Toprak, C. (2005).** Polarographic determination of some toxic trace elements in fish muscles. *Fresenius Environmental Bulletin*, 14(6), 489-493.
- John, D.M., Whitton, B.A. & Brook, A.J. (2002).** *The freshwater algal flora of the British Isles: An identification guide to freshwater and terrestrial algae*. Cambridge University Press, 702p.
- Karaca, M. (2008).** *Biosorption of aqueous Pb<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, and Ni<sup>2+</sup> ions by Dunaliella salina, Oocystis sp., Porphyridium cruentum, and Scenedesmus protuberans prior to atomic spectrometric determination*. Master's thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir, 95p.
- Katırcıoğlu, H., Aslım, B., Türker, A.R., Atıcı, T. & Beyatlı, Y. (2008).** Removal of cadmium (II) ion from aqueous system by dry biomass, immobilized live and heat-inactivated *Oscillatoria* sp. H1 isolated from freshwater (Mogan Lake). *Bioresource Technology*, 99(10), 4185-4191. DOI: [10.1016/j.biortech.2007.08.068](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.068)
- Kaptan, H. (2014).** Eğirdir Gölü (Isparta)'nın suyunda, sedimentinde ve gölde yaşayan sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758)' in bazı doku ve organlarındaki ağır metal düzeylerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 88s.
- Kibria, G. (2016).** Trace metals/heavy metals and its impact on environment, biodiversity and human health-A short review. 5p. DOI: [10.13140/RG.2.1.3102.2568](https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3102.2568).
- Knezevic, D. (2016).** *Unicellular Algae from the Genus Chlorella Grown Under Various Conditions-Potential for Use as Feed*. Master Thesis, Norwegian University, Oslo, 41p.
- König-Peter, A., Ferenc, K., Felinger, A. & Pernyeszi, T. (2015).** Biosorption characteristics of *Spirulina* and *Chlorella* cells for the accumulation of heavy metals. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 80(3), 407-419. DOI: [10.2298/JSC140321060P](https://doi.org/10.2298/JSC140321060P)
- Nazal, K. (2019).** Marine algae bioadsorbents for adsorptive removal of heavy metals. In advanced sorption process applications. *IntechOpen* London, United Kingdom, DOI: [10.5772/intechopen.80850](https://doi.org/10.5772/intechopen.80850)
- Noori, R., Berndtsson, R., Hosseinzadeh, M., Adamowski, J.F. & Abyaneh, M.R. (2018).** A critical review on the application of the national sanitation foundation water quality index. *Environmental Pollution*, 244, 575-587. DOI: [10.1016/j.envpol.2018.10.076](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.076)
- Olal, F.O. (2016).** Biosorption of selected heavy metals using green algae, *Spirogyra* species. *Journal of Nature and Science*, 6, 22-34.

- Özer, A., & Özer, D. (2003), Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats. *Journal of Hazardous Materials*, **B100**, 219-229. DOI: [10.1016/S0304-3894\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(03)00109-2)
- Poo, K.M., Son, E.B., Chang, J.S., Ren, X., Choi, Y.J. & Chae, K.J. (2018). Biochars derived from wasted marine macro-algae (*Saccharina japonica* and *Sargassum fusiforme*) and their potential for heavy metal removal in aqueous solution. *Journal of Environmental Management*, **206**, 364-372. DOI: [10.1016/j.jenvman.2017.10.056](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.10.056)
- Prescott, G.W. (1973). *Algae of The Western Great Lakes Area*. Brown Pub., Dubuque, Iowa.
- Richards, S., Dawson, J. & Stutter, M. (2019). The potential use of natural vs commercial biosorbent material to remediate stream waters by removing heavy metal contaminants. *Journal of Environmental Management*, **231**, 275-281. DOI: [10.1016/j.jenvman.2018.10.019](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.10.019)
- Rippka, R. (1988). *Isolation and purification of cyanobacteria*. In L Packer, A Glazer (Eds), *Methods in Enzymology*, Vol 167. Academic Press, San Diego, 3-27pp.
- Sahu, Y.K., Patel, K.S., Martín-Ramos, P., Rudzińska, M., Górnaś, P., Towett, E.K., Martín-Gil, J. & Tarkowska-Kukuryk, M. (2020). Algal characterization and bioaccumulation of trace elements from polluted water. *Environmental Monitoring and Assessment*, **192**(1), 38. DOI: [10.1007/s10661-019-8001-3](https://doi.org/10.1007/s10661-019-8001-3)
- Şentürk, T. & Yıldız, Ş. (2018a). Bazı esansiyel metallerin *Chlorella Vulgaris* ile biyolojik arıtımı. *Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, **16**(1), 197-207. DOI: [10.18026/cbayarsos.424092](https://doi.org/10.18026/cbayarsos.424092)
- Şentürk, T. & Yıldız, Ş. (2018b). Quaternary Adsorption Effect of Nickel (II), Antimony (III), Manganese (II) and Copper (II) onto Living Two Green Microalgae. *Cumhuriyet Science Journal*, **39**(2), 439-453. DOI: [10.17776/csj.434265](https://doi.org/10.17776/csj.434265)
- Terry, P.A. & Stone, W. (2002). Biosorption of cadmium and copper contaminated water by *Scenedesmus abundans*. *Chemosphere*, **47**, 249-255. DOI: [10.1016/S0045-6535\(01\)00303-4](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00303-4)
- Yan, H. & Pan, G. (2002). Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species. *Chemosphere*, **49**(5), 471-476. DOI: [10.1016/S0045-6535\(02\)00285-0](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00285-0)
- Yong, W. K., Sim, K. S., Poong, S.W., Wei, D., Phang, S.M. & Lim, P.E. (2018). Interactive effects of temperature and copper toxicity on photosynthetic efficiency and metabolic plasticity in *Scenedesmus quadricauda* (Chlorophyceae). *Journal of Applied Phycology*, **30**(6), 3029-3041. DOI: [10.1007/s10811-018-1574-3](https://doi.org/10.1007/s10811-018-1574-3)
- Yu, K.L., Lau, B.F., Show, P.L., Ong, H.C., Ling, T.C., Chen, W.H., Ng, E.P. & Chang, J.S. (2017). Recent developments on algal biochar production and characterization. *Bioresource Technology*. **246**, 2-11. DOI: [10.1016/j.biortech.2017.08.009](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.08.009)





## Balık Unu Kalitesine Balık Tazeliğinin Etkisi; Hamsi Unu<sup>[\*]</sup>

Barış BAYRAKLI<sup>1\*</sup> Hünkar Avni DUYAR<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sinop Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Su Ürünleri Programı, 57000, Osmaniye-Sinop, Türkiye

<sup>2</sup>Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, 57000, Aklıman-Sinop, Türkiye

Geliş Tarihi: 12 Kasım 2020

Kabul Tarihi: 28 Ocak 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atıf yapmak için: Bayraklı, B. & Duyar, H.A. (2021). Balık Unu Kalitesine Balık Tazeliğinin Etkisi; Hamsi Unu. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 57-65.

How to cite: Bayraklı, B. & Duyar, H.A. (2021). Effect of Freshness on Fish Meal Quality; Anchovy Meal. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 57-65.

<https://orcid.org/0000-0002-1812-3266>  
 <https://orcid.org/0000-0002-2560-5407>

**\*Sorumlu yazarın:**

Barış BAYRAKLI  
Sinop Üniversitesi, Meslek Yüksekokulu, Su  
Ürünleri Programı, 57000, Osmaniye-Sinop,  
Türkiye.  
 [barisbayrakli@gmail.com](mailto:barisbayrakli@gmail.com)

**Öz:** Karadeniz'den 2007-2008 balıkçılık av sezonunda avlanan hamsi balıklarından (*Engraulis engrasicholus*, L) üretilen balık unu araştırılmıştır. Sinop ilinde farklı üretim teknikleri uygulayan 3 balık unu fabrikasında (A, B ve C fabrikaları) hammaddeden numuneler alınmıştır. Toplam uçucu bazik nitrojen (TVB- N) ve tiyobarbitürik asit (TBA) analizleri yapılmış ve T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> tazelik grubu oluşturulmuştur. A, B ve C fabrikalarından T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> tazelik gruplarında meydana gelen kalite değişimlerini belirlemek amacıyla ham protein, ham yağ, ham kül, nem, aminoasit, yağ asit kompozisyonu ve renk değişimleri incelenmiştir. Elde edilen istatistikî değerlendirmeler neticesinde tazelik gruplarında hammadde bayatladıkça balık ununda ham protein, esansiyel aminoasit (EAA), esansiyel olmayan aminoasit (NEAA), doymuş yağ asitleri (SFA), çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), eikosapentaenoik asit (EPA), dekozahegzaenoik asit (DHA), omega3, omega6 ile omega3/omega6 oranının azaldığı belirlenmiştir. Balık ununda ham yağ ve nem oranının hammadde bayatladıkça arttığı tespit edilmiştir. Görülen farkların istatistikî olarak önemli olduğu sonucuna ulaşılmıştır (p<0,05). Sonuç olarak, balık tazeliği ve işleme sürecinin balık unu besin kompozisyonunu etkilediği saptanmıştır. Yüksek kaliteli balık unu üretmek için hammaddelerin taze olarak işlenmesi ve fabrikalara evaporatör sistemi kurulması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Aminoasit, balık unu, hamsi, Karadeniz, renk, tazelik, yağ asidi.

## Effect of Freshness on Fish Meal Quality; Anchovy Meal

**Abstract:** Fish meal produced from anchovy fish (*Engraulis engrasicholus*, L) fishing in the Black Sea during the 2007-2008 fishing season was investigated. Fish samples were taken in 3 fish meal factories (A, B and C factories), which apply different production techniques in the province of Sinop. T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> freshness groups were created by performing TVB-N and TBA analyzes. Crude protein, raw oil, raw ash, moisture, amino acid, fatty acid composition and color changes were examined in order to determine the quality changes in T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub> freshness groups from A, B and C factories. As a result of the statistical evaluations obtained, it was determined that the crude protein, essential amino acid, non-essential amino acid, saturated fatty acids, EPA, DHA, omega3, omega6 and omega3 / omega6 ratio decreased in fish meal as the fish became stale in the freshness groups. It has been determined that the raw oil and moisture content of fish meal increases as the raw material gets stale. It was concluded that the observed differences were statistically significant (p <0.05). As a result, it was determined that fish freshness and processing process affect the nutritional composition of fish meal. In order to produce high quality fish meal, raw materials must be freshly processed and an evaporator system must be installed in the factories.

**\*Corresponding author's:**

Barış BAYRAKLI  
Sinop University, Vocational Schools,  
Aquaculture Program, 57000, Osmaniye-  
Sinop, Turkey.  
 [barisbayrakli@gmail.com](mailto:barisbayrakli@gmail.com)

**Keywords:** Aminoacid, anchovy, Black Sea, color, fatty acid, fishmeal, freshness.

[\*] Bu makale, Barış Bayraklı'nın Doktora tezinden üretilmiştir. Balıkçılık ve yetiştiricilik konferansında (FAC 2015; at Guilin, China) sunulmuş ve özet kitapçığında basılmıştır.

This manuscript was produced from Barış BAYRAKLI's Ph.D. thesis. Fisheries and Aquaculture Conference (FAC 2015; at Guilin, China) was presented and published in its abstract book.

## GİRİŞ

Günümüz toplumunda sağlıklı beslenme diyetlerinde su ürünleri tüketimi payı artmaktadır (Bayraklı & Duyar, 2019 a; Çağlak vd., 2020). Talep edilen su ürünleri kaynakları avcılık yolu ile karşılanamayacak düzeydedir. Bunun için su ürünleri yetiştiriciliği üretimi sürekli artarak avcılıktan elde edilen üretimi yakalamış ve yakın zamanda geçebileceği öngörülmektedir (Bayraklı & Duyar, 2019 a).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde, balık beslemede kullanılan yemlerin hammaddesini balık unu oluşturmaktadır. Balığın büyümesinde ihtiyaç olan en ideal protein, aminoasit değerlerine ve omega3 gibi çok değerli PUFA içeriğine balık unu sahiptir (Webster vd., 1999; Simopoulos vd., 2000). Özellikle lizin ve metiyonin gibi aminoasitler bitkisel kaynaklı proteinlerde balık unu kadar yüksek değildir (De Silva ve Anderson, 1994). Balık unu ise sezonda fazla avlanan veya ekonomik değeri olmayan balıklar ile balık artıklarından üretilmektedir (Bayraklı vd., 2019 b). Dünya su ürünleri üretiminde avcılık miktarının daha fazla artamayacağı değerlendirilmektedir. Dolayısıyla balık unu üretimi de değişmeyeceğinden, hızlı gelişen su ürünleri yetiştiriciliği sektörü için balık unu ekonomik olarak zamanla daha değerli hale gelecektir (Kristofersson vd., 2004; Bayraklı vd., 2019 a).

Balık tazeliği balık unu kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir (Ariyawansa, 2000; De Koning, 2005). Hammadde tazeliğinin tespitinde TVB-N analizi ve biyojenik amin içeriği önemli belirleyicilerdir (Bayraklı & Duyar, 2019 b). En fazla yetiştiriciliği yapılan türler arasında olan salmon balığı yemi için üreticiler balıkların taze olarak işlenmesi ve düşük sıcaklıkta kurutulması ile üretilen balık ununu “özel ürün” olarak tercih etmektedir (Chamberlain, 1993). Balık yetiştiriciliğinin vazgeçilmez olan balık unu ve yağının kalite kriterlerinin belirlenerek daha yüksek performanslı ürünler elde edilmelidir. Farklı tazelik derecelerinde balıklardan üretilmiş balık unlarının kullanıldığı balık yetiştiriciliği çalışmalarında büyüme ve yem değerlendirme oranlarının önemli farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir (Aksnes & Mundheim, 1997; Opstvedt vd., 2000, Tapia-Salazar vd., 2004).

Türkiye’de balık unu denildiğinde Karadeniz’de yoğun olarak avlanan hamsi balığı esas alınarak ulaşımın kolay sağlandığı Sinop ve Samsun illeri akla gelmektedir (Bayraklı vd., 2019; Özdemir vd., 2006; Özdemir, 2010). Avcılığın yoğun olduğu zamanlarda balık unu fabrikalarında tesis kapasitesi ve iş akışına bağlı olarak hammadde olarak kullanılacak balığın işleme süreleri uzayabilmektedir (Bayraklı ve Duyar, 2019b).

Ülkemizde balık unu fabrikalarında evaporatör sistemi 2000’li yıllardan sonra uygulanmaya başlamıştır. Öncesinde, balık yağı ayırma işleminden sonra atık olarak çevreye bırakılan sulu kısım evaporatör sistemi ile üretim sistemine dahil olmaktadır. Burada buharlaştırma ile nem

oranı düşürülen ürün kurutucu sistemine aktarılmaktadır. Evaporasyon işlemi ile atık olacak yüksek kaliteli protein kaynağı yine balık unu olarak değerlendirilmektedir (Duyar ve Bayraklı, 2005).

Bu çalışmada, kurutma sıcaklıkları farklı, evaporatör sistemi kullanan ve kullanmayan 3 farklı fabrikada oluşturulan tazelik gruplarında üretilen ürünlerin besin kompozisyonlarının tespit edilmesi ve buna göre yüksek kalite olarak değerlendirilecek balık unu işleme standartlarının oluşturulması amaçlanmaktadır.

## MATERYAL VE METOT

**Materyal:** Araştırma, 2007-2008 av sezonunda Karadeniz’de doğrudan insan tüketimi dışında çok fazla avlanan hamsi balığının (*Engraulis encrasicolus*, L.) işlendiği (Duyar ve Bayraklı 2016) A, B ve C balık unu ve yağı fabrikalarında yürütülmüştür (Tablo 1).

**Tablo 1.** A, B ve C Fabrikalarının teknik farklılıkları.

<b>Table 1. A, B and C fishmeal factories technical differences.</b>			
	<b>A Fabrikası</b>	<b>B Fabrikası</b>	<b>C Fabrikası</b>
Kapasite (ton/gün)	2000	1500	1100
Evaporatör	Var	Var	Yok
Kurutma sıcaklığı (°C)	100	80	80
Süre * (dk)	80	90	90

\*Fabrikalarda ilk çalışmaya başladıktan sonra üretilen balık unu görülmeye kadar geçen süre.

**Metot:** Av sezonunun başlaması ile fabrikaların balık toplama havuzlarına getirilen balık taze olarak işlenmeye başlar. Sürekli olarak balık havuzlarına aktarılan balık, av miktarının çok olduğu günlerde fabrika günlük kapasitesini aştığından balık işlenememekte, hammadde balık toplama havuzlarında 48 saat ve hatta 72 saat kalabilmektedir. Fabrika havuzlarında işlenmek üzere olan Balıklardan numuneler alınıp yürütülecek analizler için gerekli hazırlıklar yapılmıştır. Numune alıp TVB-N ve TBA analizleri fabrika alanında oluşturulan bir laboratuvarında yapılmış ve Tablo 2’de belirlenen tazelik analizlerine göre T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> tazelik grupları belirlenmiştir. Tazelik gruplarını temsil eden balık unu poliamid polietilen torbalar içerisine 1 kg alınmış ve etiket bilgileri eklendikten sonra torba ağız kapatılarak -18°C depolanmıştır. Soğuk zincir uygulanarak ham protein, ham yağ, nem ve ham kül analizleri için Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Laboratuvarına, amino asit ve yağ asit analizleri için TÜBİTAK MAM’a, renk analizleri için Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Ürünleri İşleme Teknolojisi Laboratuvarına ulaştırılmış ve gerekli analizler yapılmıştır.

Toplam Uçucu Bazik Azot (TVB-N) miktarı Lücke-Geidel metoduna göre (Botta vd., 1984), TBA (Tiyobarbutirik asit sayısı) Tarladgis vd. (1960)’a göre, Ham protein analizi Kjeldahl yöntemine (AOAC, 1990)

göre, ham yağ miktarının belirlenmesi için ise Bling ve Dyer (1959)'in geliştirdiği yöntem kullanılmıştır. Kuru madde tayini Ludorff ve Meyer (1973)'e göre, ham kül miktarı ise AOAC (1990)'a göre tespit edilmiştir. Yağ asidi analizleri "Esterleştirme ve ekstraksiyon prensibi"ne göre yapılmıştır. Yağ asitlerinin tanımlamaları IUPAC (1994)'a göre

belirlenmiştir. Aminoasit Dimova (2003) metoduna göre tespit edilmiştir. Renk ölçümü balık unu numunelerin karıştırıldıktan sonra petri kaplarına yerleştirilerek, renk ölçümü petri kabının 10 farklı yerinde yapılmıştır (Schubring ve Meyer, 2002).

**Tablo 2.** A, B ve C fabrikalarında işlenen farklı tazelik (TVB-N, TBA) gruplarından üretilen balık ununda besin kompozisyonu değerleri.  
**Table 2.** Processed in A, B and C factories, produced from different freshness groups, nutritional composition values in fish meal.

Tazelik g/100g	A Fabrikası				B Fabrikası				C Fabrikası			
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
TVB-N	24,12±0,700	51,87±1,740	78,82±0,145	114,00±4,500	20,00±0,040	44,24±1,305	72,63±0,050	128,40±0,800	18,38±0,265	50,34±0,335	69,56±0,750	127,35±2,550
TBA	6,70±0,075	9,10±0,070	15,65±0,050	19,20±0,20	6,67±0,270	9,16±0,075	16,30±0,100	20,30±0,100	4,60±0,230	8,85±0,080	15,40±0,000	22,05±0,350
Nem (%)	3,54±0,175 <sup>a</sup>	3,72±0,040 <sup>a</sup>	4,91±0,050 <sup>b</sup>	7,52±0,035 <sup>c</sup>	4,50±0,055 <sup>a</sup>	5,24±0,035 <sup>b</sup>	5,89±0,040 <sup>c</sup>	6,11±0,030 <sup>d</sup>	4,49±0,030 <sup>a</sup>	5,24±0,025 <sup>b</sup>	4,56±0,010 <sup>c</sup>	4,60±0,015 <sup>c</sup>
Ham Yağ (%)	7,52±0,010 <sup>a</sup>	8,13±0,050 <sup>b</sup>	9,50±0,055 <sup>c</sup>	11,97±0,130 <sup>d</sup>	7,87±0,010 <sup>a</sup>	9,14±0,005 <sup>b</sup>	10,39±0,050 <sup>c</sup>	12,44±0,050 <sup>d</sup>	8,05±0,030 <sup>a</sup>	9,45±0,040 <sup>b</sup>	10,24±0,080 <sup>c</sup>	11,42±0,065 <sup>d</sup>
Ham Protein	76,63±0,010 <sup>a</sup>	75,58±0,095 <sup>b</sup>	73,19±0,050 <sup>c</sup>	68,02±0,095 <sup>d</sup>	75,31±0,110 <sup>a</sup>	73,62±0,065 <sup>b</sup>	71,48±0,115 <sup>c</sup>	69,52±0,040 <sup>d</sup>	74,82±0,055 <sup>a</sup>	73,06±0,035 <sup>b</sup>	72,91±0,045 <sup>c</sup>	71,43±0,055 <sup>c</sup>
Kül (%)	11,30±0,275	11,48±0,060	11,20±0,015	11,37±0,020	11,09±0,030	10,73±0,050	11,04±0,025	10,75±0,185	11,42±0,010	11,05±0,040	11,02±0,130	11,15±0,030

(a→b): Her bir fabrikadaki satırlarda farklı harflerle gösterilen tazelik ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

**İstatistikî Analiz:** Araştırma boyunca tüm analizler 2 paralel ve 2 tekerrürlü olarak yapılmış ve sonuçlar SPSS 15 istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Verilerin analiz edilmesinde iki faktörlü (fabrika ve tazelik) Faktöriyel Düzende Varyans Analizi tekniğinden yararlanılmıştır, Farklı grupları belirlemede ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılmıştır (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 2000).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Balık ve hayvan yem rasyonlarında protein kaynağı olarak değerlendirilen balık ununda yüksek kalite için balıktan yağın ve suyun kek kısmından maksimum oranda ayrılması istenir. Oksidasyon ve mikrobiyal aktivite sonucu meydana gelebilecek acılaşıma veya bozulmanın önlenmesi için balık ununda ham yağ oranının % 10'un altında olması gerekir (FAO, 1986). Yapılan balık unu çalışmalarında nem oranı %3,4-14,0 arasında, ham yağ oranı % 4,8-17,3, ham protein %59,10-77,0 ve ham kül oranı %9,7 ile %26,4 arasında değiştiği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Cho vd., 1987; Ariyawansa, 2000; Ricque vd., 1998; Barlow & Pike, 1977; Opstvedt vd., 2000; De Koning, 2005; Duyar & Bayraklı, 2005; Bayraklı ve Duyar, 2019a). Bu çalışmada tüm fabrikalarda ve tazelik gruplarında elde edilen nem oranları %10'un altında bulunmuş ve bu sonuç birçok araştırmada rapor edilen verilerle benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada bulunan ham yağ oranları diğer araştırmacıların elde ettiği sonuçlar arasında olmasına rağmen, T<sub>1</sub> ve T<sub>2</sub> grubu unlarda ham yağ oranı %10 seviyesinin altında, T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> gruplarında balık ununda istenen ham yağ oranının üzerinde bulunmuştur. Bu araştırmada bulunan ham protein miktarları diğer araştırmalarda elde edilen değerler arasında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadaki ham kül oranı yine diğer araştırma sonuçlarının arasında tespit edilmiştir. Balık ununun besin kompozisyonu işlenen balığın türüne, tazeliğine, balığın kullanım durumuna (bütün, işlenmiş balık artığı), balık ununun muhafaza şartlarına, işleme yöntemine,

kurutma sıcaklığı ve süresine göre değişim gösterir (Anderson vd., 1993).

Fabrikalarda tazelik gruplarında ham protein, ham yağ, nem oranları arasında görülen farkın istatistikî olarak önemli olduğu (P<0,05) ve işlenen balık bayatladıkça üründe nem ve ham yağ oranının artarken ham protein oranının azaldığı belirlenmiştir. Aynı şekilde Ariyawansa (2000), Ricque vd. (1998), Pike ve Hardy (1997), farklı tazelikte işlenen balıklardan elde edilen balık ununda hammadde bayatladıkça üründe nem ve ham yağ oranının artarken ham protein oranının azaldığı, ham kül oranının ise değişmediğini tespit etmişlerdir. Balık ununda işlenen balık bayatladıkça presleme esnasında tamburda bulunan gözenekleri tıkadığından dolayı verimi düşürdüğü, dolayısıyla bayat üründe nem ve ham yağ oranının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (FAO, 1986).

Bu çalışmada, A fabrikasının (kurutma sıcaklığı 100°C) T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> tazelik gruplarında belirlenen ham protein diğer B ve C fabrikasının (kurutma sıcaklığı 80°C) tazelik gruplarından daha yüksek tespit edilmiştir. Opstvedt vd. (2003), 70 ve 100°C'de kurutma süreci sonucunda balık ununda ham protein değerini sırasıyla %74,5, %76,9 olarak raporlamışlar ve kurutma sıcaklığının artması ile unda daha yüksek ham protein olduğunu bildirmişlerdir. Kurutma işleminde uygulanan yüksek sıcaklık % nem oranını düşürdüğünden % ham protein oranını daha yüksek çıkardığı görülmüştür. Kurutma ve soğutma ünitelerinin kontrol edilmesi ile balık ununun ham protein oranının ayarlanabileceği söylenebilir.

Araştırmada farklı tazelik gruplarında ki hamsi balığından üretilen balıklardan yapılan renk analiz sonuçları Tablo 3'de verilmiştir. Renk L (0-100) parlaklık, renk a kırmızıdan (+) yeşile (-), renk b (+) sarıdan (-) mavi değeri ifade eder. Farklı tür balıklardan üretilen balık unlarında renk L (parlaklık), renk a (kırmızılık) ve renk b (sarılık) analiz sonuçları; Cho vd. (1987), sırasıyla karides ununda 63,4, 5,5 ve 15,6, hamsi ununda 54,2, 7,5, 20,0 olarak bulunmuşlar, Sifuentes vd. (2009), ise evaporatörlü balık ununda 47,8, 3,1 ve 15,1 olarak belirlemişlerdir. Yapılan

çalışmada tazelik gruplarında ortalama renk L en düşük C fabrikası T<sub>4</sub> grubunda (47,28), en yüksek A fabrikası T<sub>1</sub> grubunda (54,08), renk a en düşük A fabrikası T<sub>4</sub> grubunda (2,09), en yüksek B fabrikası T<sub>1</sub> grubunda (3,08) ve renk b en düşük A fabrikası T<sub>1</sub> grubunda (15,94), en yüksek B fabrikası T<sub>4</sub> grubunda (20,11) görülmüştür. Balık bayatladıkça elde edilen unda renk L değerine göre parlaklığının azaldığı ve renk a değerinin kırmızıdan yeşile doğru, renk b değerinin ise değişimin maviden sarıya doğru

olduğu gözlenmiştir. Tazelik grupları arasında görülen fark istatistiki olarak önemlidir (P<0,05). 100°C sıcaklıkta kurutma işlemi yapan A fabrikası ile 80°C sıcaklıkta kurutma işlemi yapan B ve C fabrikasının renk analiz sonuçları incelendiğinde yüksek sıcaklıktan düşük sıcaklığa göre parlaklığın azaldığı (renk L), yeşilden kırmızıya doğru (renk a) ve maviden sarıya doğru (renk b) değiştiği tespit edilmiştir.

**Tablo 3.** A, B ve C fabrikalarında farklı tazelik gruplarından üretilen balık ununda renk analiz değerleri.

**Table 3.** The color analysis values of fish meal produced from different freshness groups in A, B and C factories.

Tazelik g/100g	A Fabrikası				B Fabrikası				C Fabrikası			
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
Renk L	54,08±0,020 <sup>a</sup>	53,80±0,055 <sup>b</sup>	53,42±0,270 <sup>b</sup>	50,38±0,035 <sup>c</sup>	51,24±0,015 <sup>a</sup>	52,18±0,040 <sup>b</sup>	48,05±0,150 <sup>c</sup>	47,30±0,210 <sup>a</sup>	49,48±0,065 <sup>a</sup>	48,60±0,020 <sup>b</sup>	47,90±0,005 <sup>c</sup>	47,28±0,145 <sup>d</sup>
Renk a	2,26±0,020 <sup>a</sup>	2,38±0,055 <sup>b</sup>	2,20±0,005 <sup>c</sup>	2,09±0,005 <sup>c</sup>	3,08±0,005 <sup>a</sup>	2,86±0,005 <sup>b</sup>	2,70±0,100 <sup>b</sup>	2,24±0,005 <sup>c</sup>	2,66±0,005 <sup>a</sup>	2,76±0,020 <sup>b</sup>	2,69±0,010 <sup>a</sup>	2,29±0,010 <sup>c</sup>
Renk b	15,94±0,050 <sup>a</sup>	16,13±0,070 <sup>a</sup>	17,06±0,095 <sup>b</sup>	17,72±0,080 <sup>c</sup>	18,60±0,195 <sup>b</sup>	18,15±0,550 <sup>a</sup>	19,34±0,005 <sup>bc</sup>	20,11±0,030 <sup>c</sup>	16,94±0,040 <sup>b</sup>	17,85±0,030 <sup>b</sup>	18,03±0,050 <sup>c</sup>	18,33±0,030 <sup>d</sup>

(a→b): Her bir fabrikadaki satırlarda farklı harflerle gösterilen tazelik ortalamaları arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Yapılan çalışma yağ asit sonuçları Tablo 4'de verilmiştir. Yetiştirilen balık etinde çoklu doymamış yağ asitlerinin (SFA) yüksek oranda olması beklenir ve yemdeki yağ asit kompozisyonu ile balık etindeki yağ asit kompozisyonu arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır (Simopoulos, 2008). Balık ununda doymuş yağ asitlerini (SFA) en yüksek oranda Palmitik asit temsil etmektedir (Gooch vd., 1987). Tablo 4'de görüleceği gibi yapılan çalışmada SFA en yüksek A fabrikası T<sub>1</sub> grubunda

(%35,14), en düşük C fabrikası T<sub>4</sub> grubunda (%33,61) olduğu, en yüksek SFA'nın palmitik asit olduğu (%19,81±0,082) ardından ise miristik asit (%6,47±0,045) geldiği görülmüştür. De Koning (2005), Barlow ve Pike (1977) balık ununda toplam SFA %33,44-34,2 oranı arasında olduğunu ve SFA içerisinde en yüksek palmitik asit olduğunu (%19,81-23) bulmuşlardır. Bu çalışmada ki sonuçlar ile diğer literatür değerleri benzerlik göstermektedir.

**Tablo 4.** A, B ve C fabrikalarında farklı tazelik gruplarından üretilen balık ununda yağ asidi değerleri.

**Table 4.** The fatty acid values of fish meal produced from different freshness groups in A, B and C factories.

Tazelik g/100g	A Fabrikası				B Fabrikası				C Fabrikası			
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
C14:0	6,79±0,020 <sup>a</sup>	6,58±0,045 <sup>b</sup>	6,58±0,025 <sup>b</sup>	6,20±0,020 <sup>c</sup>	6,30±0,015 <sup>a</sup>	6,23±0,015 <sup>a</sup>	6,48±0,015 <sup>b</sup>	6,12±0,055 <sup>c</sup>	6,77±0,030 <sup>a</sup>	6,66±0,010 <sup>b</sup>	6,36±0,005 <sup>c</sup>	6,56±0,005 <sup>d</sup>
C16:0	20,39±0,020 <sup>a</sup>	19,90±0,020 <sup>b</sup>	19,59±0,010 <sup>c</sup>	19,60±0,015 <sup>c</sup>	19,96±0,010 <sup>a</sup>	19,91±0,010 <sup>b</sup>	19,88±0,005 <sup>b</sup>	20,37±0,050 <sup>a</sup>	20,04±0,025 <sup>b</sup>	19,12±0,005 <sup>c</sup>	19,09±0,010 <sup>c</sup>	19,09±0,010 <sup>c</sup>
C18:0	3,54±0,025 <sup>a</sup>	3,55±0,005 <sup>a</sup>	3,51±0,010 <sup>a</sup>	3,52±0,050 <sup>a</sup>	3,64±0,015 <sup>a</sup>	3,87±0,010 <sup>b</sup>	3,68±0,010 <sup>c</sup>	4,03±0,010 <sup>d</sup>	3,62±0,005 <sup>a</sup>	3,74±0,015 <sup>b</sup>	3,88±0,010 <sup>c</sup>	3,92±0,010 <sup>c</sup>
C16:1	4,87±0,005 <sup>a</sup>	5,19±0,050 <sup>b</sup>	5,11±0,020 <sup>b</sup>	4,90±0,015 <sup>a</sup>	5,02±0,005 <sup>a</sup>	5,24±0,005 <sup>b</sup>	5,69±0,035 <sup>c</sup>	6,00±0,070 <sup>d</sup>	5,20±0,005 <sup>a</sup>	5,32±0,040 <sup>b</sup>	6,30±0,005 <sup>c</sup>	6,31±0,005 <sup>c</sup>
C18:1n9	12,53±0,010 <sup>a</sup>	12,88±0,005 <sup>b</sup>	11,94±0,075 <sup>c</sup>	11,95±0,010 <sup>c</sup>	13,64±0,015 <sup>b</sup>	13,62±0,025 <sup>b</sup>	13,73±0,005 <sup>a</sup>	13,51±0,070 <sup>b</sup>	12,82±0,010 <sup>a</sup>	12,72±0,065 <sup>a</sup>	13,76±0,015 <sup>b</sup>	13,92±0,005 <sup>c</sup>
C18:2n6t	2,26±0,015 <sup>b</sup>	2,28±0,015 <sup>b</sup>	2,27±0,010 <sup>b</sup>	2,25±0,040 <sup>b</sup>	2,25±0,025 <sup>a</sup>	2,24±0,035 <sup>a</sup>	2,25±0,010 <sup>b</sup>	2,20±0,015 <sup>b</sup>	2,28±0,010 <sup>a</sup>	2,17±0,010 <sup>a</sup>	1,92±0,015 <sup>b</sup>	1,92±0,015 <sup>b</sup>
C20:5n3	8,65±0,005 <sup>a</sup>	8,56±0,035 <sup>ab</sup>	8,50±0,015 <sup>b</sup>	8,36±0,025 <sup>c</sup>	8,64±0,010 <sup>a</sup>	8,50±0,015 <sup>a</sup>	8,25±0,020 <sup>c</sup>	8,18±0,005 <sup>d</sup>	9,16±0,025 <sup>a</sup>	8,98±0,010 <sup>b</sup>	8,98±0,005 <sup>b</sup>	8,32±0,025 <sup>c</sup>
C22:6n3	21,18±0,035 <sup>a</sup>	20,31±0,020 <sup>b</sup>	19,79±0,010 <sup>c</sup>	19,46±0,020 <sup>d</sup>	19,17±0,025 <sup>a</sup>	18,72±0,005 <sup>b</sup>	17,60±0,015 <sup>c</sup>	16,13±0,005 <sup>d</sup>	19,47±0,015 <sup>a</sup>	18,88±0,040 <sup>b</sup>	17,38±0,015 <sup>c</sup>	16,96±0,035 <sup>d</sup>
SFA	35,14±0,055 <sup>a</sup>	34,30±0,155 <sup>b</sup>	33,78±0,105 <sup>c</sup>	33,64±0,005 <sup>c</sup>	34,28±0,035 <sup>a</sup>	34,20±0,135 <sup>a</sup>	34,34±0,025 <sup>a</sup>	34,61±0,235 <sup>a</sup>	34,97±0,050 <sup>a</sup>	34,89±0,030 <sup>a</sup>	33,50±0,040 <sup>b</sup>	33,61±0,005 <sup>b</sup>
MUFA	18,86±0,055 <sup>a</sup>	20,52±0,005 <sup>b</sup>	19,66±0,035 <sup>c</sup>	19,80±0,090 <sup>a</sup>	21,27±0,014 <sup>a</sup>	20,92±0,035 <sup>b</sup>	21,55±0,020 <sup>c</sup>	21,12±0,010 <sup>d</sup>	20,32±0,020 <sup>a</sup>	20,37±0,080 <sup>b</sup>	22,04±0,005 <sup>c</sup>	22,06±0,005 <sup>c</sup>
PUFA	34,52±0,020 <sup>a</sup>	33,65±0,060 <sup>b</sup>	33,02±0,025 <sup>c</sup>	32,64±0,120 <sup>d</sup>	32,60±0,005 <sup>a</sup>	31,82±0,055 <sup>b</sup>	30,40±0,022 <sup>c</sup>	28,77±0,020 <sup>d</sup>	33,29±0,030 <sup>a</sup>	32,48±0,030 <sup>b</sup>	30,56±0,015 <sup>c</sup>	29,42±0,035 <sup>d</sup>
TYA*	11,48±0,090 <sup>a</sup>	11,54±0,215 <sup>a</sup>	13,56±0,095 <sup>b</sup>	13,92±0,025 <sup>b</sup>	11,86±0,035 <sup>a</sup>	13,07±0,230 <sup>b</sup>	13,72±0,045 <sup>c</sup>	15,50±0,200 <sup>d</sup>	11,42±0,005 <sup>a</sup>	12,26±0,015 <sup>b</sup>	13,91±0,025 <sup>c</sup>	14,90±0,050 <sup>d</sup>
PUFA/SFA	0,98±0,010 <sup>a</sup>	0,98±0,005 <sup>a</sup>	0,98±0,010 <sup>a</sup>	0,97±0,008 <sup>a</sup>	0,95±0,004 <sup>a</sup>	0,93±0,005 <sup>b</sup>	0,88±0,005 <sup>c</sup>	0,84±0,005 <sup>d</sup>	0,95±0,005 <sup>a</sup>	0,93±0,004 <sup>b</sup>	0,91±0,008 <sup>c</sup>	0,88±0,005 <sup>d</sup>
MUFA/SFA	0,54±0,005	0,60±0,005	0,58±0,005	0,59±0,005	0,62±0,004	0,61±0,006	0,63±0,004	0,61±0,005	0,58±0,004	0,58±0,005	0,66±0,005	0,66±0,004
DHA/EPA	2,45±0,005 <sup>a</sup>	2,37±0,010 <sup>b</sup>	2,32±0,005 <sup>c</sup>	2,32±0,005 <sup>c</sup>	2,22±0,005 <sup>a</sup>	2,20±0,005 <sup>a</sup>	2,14±0,005 <sup>b</sup>	1,98±0,005 <sup>c</sup>	1,98±0,005 <sup>a</sup>	2,10±0,005 <sup>b</sup>	1,94±0,005 <sup>c</sup>	2,04±0,005 <sup>d</sup>
ω3	30,85±0,030 <sup>a</sup>	29,94±0,055 <sup>b</sup>	29,37±0,010 <sup>c</sup>	28,90±0,060 <sup>d</sup>	28,82±0,005 <sup>a</sup>	28,22±0,015 <sup>b</sup>	26,90±0,015 <sup>c</sup>	25,28±0,015 <sup>d</sup>	29,65±0,025 <sup>a</sup>	28,89±0,040 <sup>b</sup>	27,29±0,010 <sup>c</sup>	26,20±0,065 <sup>d</sup>
ω6	3,91±0,010 <sup>ab</sup>	3,98±0,020 <sup>ab</sup>	3,87±0,020 <sup>a</sup>	4,01±0,050 <sup>b</sup>	4,08±0,010 <sup>c</sup>	3,93±0,060 <sup>b</sup>	3,78±0,010 <sup>c</sup>	3,74±0,040 <sup>c</sup>	3,91±0,010 <sup>a</sup>	3,86±0,080 <sup>b</sup>	3,64±0,030 <sup>b</sup>	3,62±0,010 <sup>b</sup>
ω3/ω6	7,90±0,020 <sup>a</sup>	7,53±0,030 <sup>b</sup>	7,58±0,040 <sup>b</sup>	7,20±0,080 <sup>c</sup>	7,06±0,020 <sup>a</sup>	7,19±0,100 <sup>a</sup>	7,10±0,020 <sup>a</sup>	6,76±0,080 <sup>b</sup>	7,59±0,000 <sup>a</sup>	7,50±0,160 <sup>a</sup>	7,50±0,060 <sup>a</sup>	7,25±0,125 <sup>a</sup>

(a→b): Her bir fabrikadaki satırlarda farklı harflerle gösterilen tazelik ortalamaları arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Balık ununda tekli doymamış yağ asitleri (MUFA) içerisinde oleik asit palmitoleik asitten daha fazla miktarda bulunur (Gooch vd., 1987). Bu çalışmada, balık ununda tespit edilen MUFA oranı ortalama %20,71±0,196 olduğu, MUFA içeriğinde oleik asit (%13,08±0,141) ardından ise palmitoleik asitin (%5,43±0,104) sıralandığı görülmüştür. De Koning (2005), hamsi ununda MUFA %24,7 oranında, oleik asidin en yüksek oranda bulunduğunu bildirmiş, ancak bu sonuçların bizim çalışmadan yüksek olduğu görülmüştür. Barlow ve Pike (1977), balık ununda oleik asit miktarının bizim çalışma sonucuna benzer olarak %13 olduğunu bildirmiştir. Çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) eikosapentaenoik asit (EPA) ve dekozahegzaenoik asit (DHA) miktarı genellikle balık türlerinde yüksektir (Gooch

vd., 1987). De Koning (2005), balık ununda PUFA oranlarını %33,0 bulmuş, oranı %13,8 olan DHA en yüksek PUFA olduğunu daha sonra ise %10,5 oranında EPA olduğunu beyan etmişlerdir. Bu çalışmada, PUFA oranı ortalama %31,93±0,353 olup en yüksek çoklu doymamış asidi DHA (%18,76±0,294) ve daha sonra EPA (%8,59±0,062) olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarını De Koning (2005), çalışması ile farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıkların işlenen balığın türüne, bölgesel farklılığa ve işleme metoduna göre değiştiği söylenebilir.

Yağdaki omega3 yağ asitleri miktarı, balığa verilen yemin veya balığın yaşadığı ortamın besin bileşimine bağlıdır (Suzuki vd., 1986). Balıklarda omega3 doymamış yağ asitleri omega6 doymamış yağ asitlerine göre daha

çoktur (Stansby, 1969). Fox vd. (2004), balık yağlarında omega3/omega6 yağ asit oranını %15,7-16,7 arasında değiştiğini bildirmiştir. Barlow ve Pike (1977) standart hamsi ununda omega3 oranını %34,3, omega6 oranını %4,1 ve omega3 ile omega6 yağ asit oranını 8,35 olarak hesaplamışlardır. Yapılan çalışmada ortalama omega3 %28,36±0,327 oranında bulunurken, omega6 %3,86±0,030 olup omega3/omega6 oranı 7,35±0,060 olarak tespit edilmiş ve yukarıda literatürü verilen sonuçlardan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıkların işlenen balığın türüne, bölgesel farklılığa ve işleme metoduna göre değiştiği söylenebilir.

Fabrikalardaki T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> tazelik grupları incelendiğinde fabrikalardaki tazelik grupları incelendiğinde SFA değerleri ortalama sırasıyla %34,80±0,169, %34,46±0,147, %33,87±0,158 ve %33,95±0,216 olarak bulunmuş ve balık tazeliğinin SFA oranların tesiri olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde balık bayatladıkça unda PUFA oranı (sırasıyla; %33,47±0,356, %32,65±0,338, %31,32±0,536, %30,28±0,757)'da düşmektedir. Balık bayatladıkça TBA değeri yükselmiştir. Balıkların bayatladıkça üretilen unda PUFA/SFA oranında azaldığı görülmüştür. Balık bayatladıkça tazelik gruplarında DHA (sırasıyla; %19,94±0,396, 19,30±0,319, 18,26±0,487, 17,52±0,632), EPA (sırasıyla; %8,82±0,110, 8,68±0,095, 8,58±0,134, 8,28±0,036) ve DHA/EPA oranlarının (sırasıyla; %2,26±0,060, 2,22±0,050, 2,13±0,071, 2,11±0,068) önemli derecede azalmıştır. Omega3 (sırasıyla: %29,77±0,372, 29,01±0,317, 27,85±0,486, 26,80±0,686), omega6 (sırasıyla: %3,97±0,040, 3,92±0,030, 3,76±0,040, 3,79±0,080) ve omega3/omega6 oranı (sırasıyla: %7,52±0,160, 7,40±0,080, 7,40±0,100, 7,07±0,100) balık

bayatladıkça azaldığı görülmektedir. Rezaei vd., (2007) ile Ng ve Bahurmiz (2009) depolanma süresinin balıkta PUFA ve omega3 oranını azalttığı, PUFA'nın SFA'ya göre daha hızlı okside olduğunu bildirmiştir. Literatürü verilen araştırmacıların sonuçları bu çalışmayı desteklemektedir.

Tablo 5'de görüldüğü gibi balığın tümünden yapılan unun aminoasit miktarları ile bu çalışma benzerlik göstermesine rağmen balık artıkları ile yapılan un değerlerinin beklenildiği gibi farklı olduğu anlaşılmaktadır. Yapılan literatür taramalarında balık tazeliğinin balık unundaki aminoasit kompozisyonuna etkisi konusunda araştırmalar bulunamamıştır. Balık bayatladıkça unda A fabrikasında (sırasıyla; %39,13±0,010, 38,90±0,115, 36,62±0,015, 33,13±0,120), B fabrikasında (sırasıyla; %39,06±0,075, 36,78±0,020, 35,67±0,075, 34,54±0,115) ve C fabrikasında (sırasıyla; %38,37±0,050, 37,55±0,020, 36,34±0,065, 35,93±0,020) balık bayatladıkça elde edilen unda esansiyel aminoasit miktarları azalmış ve fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (P<0,05). Esansiyel olmayan aminoasit değerleri A fabrikasında (sırasıyla; %37,50±0,020, 36,67±0,020, 36,56±0,065, 34,88±0,025), B fabrikasında (sırasıyla; %36,25±0,035, 36,84±0,045, 35,81±0,040, 34,98±0,075) ve C fabrikasında (sırasıyla; %36,44±0,005, 35,52±0,055, 36,58±0,020, 35,50±0,035) azalmış ve fark istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0,05). Esansiyel olan aminoasitlerin esansiyel olmayan aminoasitlere oranı ise A fabrikasında (sırasıyla; 1,04, 1,06, 1,00, 0,95), B fabrikasında (sırasıyla; 1,08, 1,00, 1,00, 0,98) ve C fabrikasında (sırasıyla; 1,05, 1,06, 1,00, 1,01) balık bayatladıkça unda azalmış ve bu oranın istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p<0,05).

**Table 5.** A, B ve C fabrikalarında farklı tazelik gruplarından üretilen balık ununda aminoasit değerleri.

**Table 5.** The aminoacid values of fish meal produced from different freshness groups in A, B and C factories.

Tazelik g/100g	A Fabrikası				B Fabrikası				C Fabrikası			
	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
Threonin	2,89±0,020 <sup>a</sup>	2,90±0,015 <sup>a</sup>	2,82±0,015 <sup>b</sup>	2,54±0,015 <sup>c</sup>	2,72±0,025 <sup>a</sup>	2,62±0,015 <sup>b</sup>	2,52±0,025 <sup>c</sup>	2,51±0,005 <sup>c</sup>	2,84±0,030 <sup>a</sup>	2,66±0,035 <sup>b</sup>	2,79±0,030 <sup>ab</sup>	3,10±0,040 <sup>c</sup>
Valin	4,08±0,005 <sup>a</sup>	4,12±0,005 <sup>a</sup>	3,94±0,005 <sup>b</sup>	3,55±0,010 <sup>c</sup>	3,84±0,010 <sup>a</sup>	3,68±0,010 <sup>b</sup>	3,79±0,010 <sup>c</sup>	3,74±0,005 <sup>c</sup>	4,09±0,010 <sup>a</sup>	3,73±0,010 <sup>b</sup>	3,55±0,015 <sup>c</sup>	2,98±0,025 <sup>d</sup>
Methionin	2,72±0,015 <sup>a</sup>	2,58±0,005 <sup>b</sup>	2,54±0,015 <sup>b</sup>	2,42±0,016 <sup>c</sup>	2,58±0,010 <sup>a</sup>	2,46±0,015 <sup>b</sup>	2,52±0,005 <sup>c</sup>	2,50±0,020 <sup>bc</sup>	2,73±0,020 <sup>a</sup>	2,38±0,015 <sup>b</sup>	2,38±0,020 <sup>b</sup>	2,28±0,010 <sup>c</sup>
Triptofan	1,27±0,005 <sup>ab</sup>	1,30±0,020 <sup>a</sup>	1,23±0,005 <sup>b</sup>	1,06±0,005 <sup>c</sup>	1,17±0,005 <sup>b</sup>	1,18±0,005 <sup>b</sup>	1,24±0,005 <sup>c</sup>	1,11±0,030 <sup>c</sup>	1,38±0,005 <sup>a</sup>	1,48±0,005 <sup>b</sup>	1,04±0,020 <sup>c</sup>	1,31±0,010 <sup>d</sup>
Fenilalanin	2,92±0,005 <sup>c</sup>	3,22±0,030 <sup>a</sup>	3,18±0,005 <sup>a</sup>	3,05±0,035 <sup>b</sup>	3,30±0,025 <sup>a</sup>	3,16±0,005 <sup>b</sup>	3,32±0,015 <sup>c</sup>	3,12±0,005 <sup>b</sup>	2,86±0,005 <sup>a</sup>	3,14±0,005 <sup>b</sup>	3,09±0,015 <sup>c</sup>	3,22±0,010 <sup>d</sup>
İzolosin	2,95±0,005 <sup>a</sup>	2,85±0,010 <sup>b</sup>	2,74±0,015 <sup>c</sup>	2,64±0,005 <sup>d</sup>	3,68±0,005 <sup>a</sup>	3,03±0,010 <sup>b</sup>	2,95±0,010 <sup>c</sup>	3,01±0,010 <sup>b</sup>	2,90±0,020 <sup>a</sup>	3,19±0,010 <sup>b</sup>	3,08±0,015 <sup>c</sup>	3,14±0,010 <sup>d</sup>
Arjinin	6,37±0,010 <sup>a</sup>	6,06±0,010 <sup>b</sup>	5,89±0,010 <sup>c</sup>	5,60±0,065 <sup>d</sup>	5,84±0,035 <sup>a</sup>	5,81±0,020 <sup>ab</sup>	5,78±0,025 <sup>ab</sup>	5,74±0,005 <sup>b</sup>	5,85±0,055 <sup>a</sup>	5,93±0,032 <sup>b</sup>	6,16±0,010 <sup>c</sup>	6,16±0,010 <sup>c</sup>
Losin	7,24±0,015 <sup>a</sup>	7,30±0,025 <sup>a</sup>	7,11±0,030 <sup>b</sup>	6,20±0,040 <sup>c</sup>	7,40±0,005 <sup>a</sup>	7,02±0,015 <sup>b</sup>	7,10±0,015 <sup>b</sup>	6,66±0,015 <sup>d</sup>	7,02±0,015 <sup>a</sup>	7,11±0,010 <sup>b</sup>	7,22±0,015 <sup>c</sup>	7,33±0,020 <sup>d</sup>
Histidin	3,12±0,025 <sup>a</sup>	3,04±0,020 <sup>a</sup>	1,81±0,030 <sup>b</sup>	1,26±0,025 <sup>c</sup>	3,20±0,015 <sup>a</sup>	2,58±0,015 <sup>b</sup>	1,31±0,005 <sup>c</sup>	1,19±0,015 <sup>d</sup>	2,93±0,020 <sup>a</sup>	2,76±0,015 <sup>b</sup>	2,03±0,030 <sup>c</sup>	1,20±0,025 <sup>d</sup>
Lizin	5,56±0,015 <sup>a</sup>	5,56±0,015 <sup>a</sup>	5,36±0,015 <sup>b</sup>	4,80±0,005 <sup>c</sup>	5,34±0,010 <sup>a</sup>	5,23±0,010 <sup>b</sup>	5,13±0,010 <sup>c</sup>	4,94±0,005 <sup>d</sup>	5,32±0,010 <sup>a</sup>	5,24±0,005 <sup>ab</sup>	5,21±0,010 <sup>b</sup>	5,20±0,010 <sup>c</sup>
<b>EAA</b>	<b>39,13±0,010<sup>a</sup></b>	<b>38,90±0,115<sup>a</sup></b>	<b>36,62±0,015<sup>b</sup></b>	<b>33,13±0,120<sup>c</sup></b>	<b>39,06±0,075<sup>a</sup></b>	<b>36,78±0,020<sup>b</sup></b>	<b>35,67±0,075<sup>c</sup></b>	<b>34,54±0,115<sup>d</sup></b>	<b>38,37±0,050<sup>a</sup></b>	<b>37,55±0,020<sup>b</sup></b>	<b>36,34±0,065<sup>c</sup></b>	<b>35,93±0,020<sup>d</sup></b>
Aspartik asit	5,96±0,025 <sup>a</sup>	5,70±0,015 <sup>b</sup>	5,77±0,010 <sup>b</sup>	5,67±0,010 <sup>c</sup>	5,76±0,025 <sup>a</sup>	5,70±0,015 <sup>ab</sup>	5,66±0,025 <sup>b</sup>	5,72±0,010 <sup>ab</sup>	5,85±0,025 <sup>a</sup>	5,84±0,025 <sup>a</sup>	6,04±0,005 <sup>b</sup>	5,98±0,015 <sup>b</sup>
Glutamik asit	9,06±0,025 <sup>a</sup>	8,86±0,025 <sup>ab</sup>	8,81±0,020 <sup>b</sup>	8,43±0,010 <sup>c</sup>	8,58±0,005 <sup>a</sup>	8,40±0,025 <sup>b</sup>	8,48±0,020 <sup>ab</sup>	8,44±0,030 <sup>b</sup>	9,08±0,035 <sup>a</sup>	9,08±0,040 <sup>a</sup>	8,77±0,020 <sup>b</sup>	8,76±0,020 <sup>b</sup>
Asparajin	1,58±0,010 <sup>b</sup>	1,65±0,020 <sup>a</sup>	1,30±0,005 <sup>c</sup>	1,42±0,010 <sup>c</sup>	2,00±0,010 <sup>a</sup>	1,96±0,005 <sup>b</sup>	1,32±0,005 <sup>c</sup>	1,22±0,005 <sup>d</sup>	1,64±0,015 <sup>a</sup>	1,14±0,005 <sup>b</sup>	1,60±0,010 <sup>b</sup>	1,44±0,015 <sup>c</sup>
Serin	3,80±0,005 <sup>a</sup>	3,50±0,005 <sup>b</sup>	3,45±0,050 <sup>b</sup>	3,10±0,005 <sup>c</sup>	3,65±0,050 <sup>a</sup>	3,45±0,050 <sup>b</sup>	3,75±0,050 <sup>a</sup>	3,25±0,050 <sup>c</sup>	3,55±0,050 <sup>a</sup>	3,45±0,050 <sup>a</sup>	3,40±0,005 <sup>b</sup>	3,41±0,005 <sup>b</sup>
Glutamin	1,25±0,050 <sup>a</sup>	1,31±0,010 <sup>a</sup>	1,01±0,010 <sup>b</sup>	1,10±0,005 <sup>c</sup>	1,11±0,010 <sup>b</sup>	1,15±0,050 <sup>b</sup>	1,32±0,015 <sup>c</sup>	0,95±0,050 <sup>d</sup>	0,99±0,010 <sup>b</sup>	1,35±0,050 <sup>ab</sup>	1,19±0,010 <sup>ab</sup>	1,19±0,010 <sup>ab</sup>
Glisin	2,46±0,020 <sup>b</sup>	2,47±0,020 <sup>b</sup>	2,54±0,005 <sup>a</sup>	2,58±0,005 <sup>a</sup>	2,24±0,025 <sup>b</sup>	2,30±0,005 <sup>b</sup>	2,42±0,015 <sup>c</sup>	2,46±0,030 <sup>a</sup>	2,49±0,015 <sup>b</sup>	2,20±0,040 <sup>c</sup>	2,54±0,005 <sup>b</sup>	2,60±0,005 <sup>a</sup>
Sistein	0,42±0,010 <sup>c</sup>	0,40±0,005 <sup>b</sup>	1,33±0,040 <sup>a</sup>	1,15±0,020 <sup>b</sup>	1,15±0,010 <sup>a</sup>	1,27±0,020 <sup>b</sup>	0,77±0,030 <sup>c</sup>	1,21±0,020 <sup>ab</sup>	0,33±0,025 <sup>c</sup>	0,46±0,020 <sup>b</sup>	0,85±0,020 <sup>b</sup>	0,48±0,015 <sup>b</sup>
Hidroksiprolin	1,20±0,005 <sup>a</sup>	0,94±0,005 <sup>b</sup>	1,10±0,010 <sup>b</sup>	1,12±0,005 <sup>b</sup>	1,18±0,010 <sup>a</sup>	1,02±0,005 <sup>b</sup>	1,16±0,055 <sup>a</sup>	0,98±0,005 <sup>b</sup>	1,18±0,025 <sup>b</sup>	1,16±0,015 <sup>b</sup>	1,50±0,015 <sup>a</sup>	0,92±0,010 <sup>c</sup>
Prolin	3,27±0,010 <sup>a</sup>	3,28±0,015 <sup>a</sup>	3,20±0,010 <sup>b</sup>	2,80±0,005 <sup>c</sup>	2,72±0,015 <sup>a</sup>	2,72±0,005 <sup>a</sup>	2,66±0,005 <sup>b</sup>	2,73±0,010 <sup>a</sup>	3,22±0,025 <sup>a</sup>	3,16±0,010 <sup>b</sup>	3,14±0,032 <sup>b</sup>	3,08±0,005 <sup>c</sup>
Alanin	5,10±0,020 <sup>a</sup>	4,97±0,010 <sup>b</sup>	4,83±0,010 <sup>c</sup>	4,53±0,050 <sup>d</sup>	4,75±0,020 <sup>a</sup>	4,69±0,010 <sup>a</sup>	4,74±0,025 <sup>a</sup>	4,77±0,025 <sup>a</sup>	4,54±0,020 <sup>b</sup>	4,60±0,015 <sup>bc</sup>	4,62±0,005 <sup>c</sup>	4,62±0,005 <sup>c</sup>
Tirozin	1,81±0,015 <sup>a</sup>	1,69±0,010 <sup>b</sup>	1,73±0,020 <sup>ab</sup>	1,60±0,035 <sup>c</sup>	1,60±0,025 <sup>a</sup>	2,14±0,005 <sup>b</sup>	2,19±0,010 <sup>a</sup>	1,90±0,005 <sup>c</sup>	1,80±0,005 <sup>b</sup>	1,80±0,010 <sup>b</sup>	1,85±0,030 <sup>ab</sup>	1,88±0,054 <sup>ab</sup>
<b>EOAA</b>	<b>37,50±0,020<sup>a</sup></b>	<b>36,56±0,065<sup>b</sup></b>	<b>34,88±0,025<sup>c</sup></b>	<b>36,25±0,035<sup>d</sup></b>	<b>36,84±0,045<sup>a</sup></b>	<b>35,81±0,040<sup>b</sup></b>	<b>34,98±0,075<sup>c</sup></b>	<b>36,44±0,005<sup>d</sup></b>	<b>35,52±0,055<sup>a</sup></b>	<b>36,58±0,020<sup>b</sup></b>	<b>36,58±0,020<sup>b</sup></b>	<b>35,50±0,035<sup>d</sup></b>
EAA/EOAA	1,04±0,000 <sup>b</sup>	1,06±0,000 <sup>a</sup>	1,00±0,005 <sup>c</sup>	0,95±0,000 <sup>d</sup>	1,08±0,000 <sup>a</sup>	1,00±0,000 <sup>b</sup>	1,00±0,005 <sup>b</sup>	0,98±0,005 <sup>b</sup>	1,05±0,000 <sup>a</sup>	1,06±0,000 <sup>a</sup>	1,00±0,005 <sup>b</sup>	1,01±0,000 <sup>b</sup>
EAA/HP	0,51	0,51	0,50	0,49	0,52	0,50	0,50	0,50	0,51	0,51	0,50	0,50

(a—b): Her bir fabrikadaki satırlarda farklı harflerle gösterilen tazelik ortalamaları arasındaki fark istatistiki olarak önemlidir (p<0,05).

Uzun depolama süreleri bakterilerin aminoasitleri parçalanması sonucunda biyojenik aminlerin ortaya çıktığı, bu toksik maddelerin balıkların büyüme, yem değerlendirme, iştahsızlık ve diğer anomaliliklere sebep

olduğu bildirilmektedir (Anderson vd., 1993). Bunun için balık unu kalitesine etkileyen en önemli etkenlerden birisi tazeliklidir. Esansiyel aminoasitlerden; threonin A fabrikasında (sırasıyla; %2,89±0,020, 2,90±0,015,

2,82±0,015, 2,54 ±0,015) ve B fabrikasında (sırasıyla; %2,72±0,025, 2,62±0,015, 2,52±0,025, 2,51±0,005) balık bayatladıkça unda azaldığı ve farkın önemli olduğu (P<0,05), valin fabrikalarının tazelik gruplarında ortalama olarak sırasıyla; %4,00±0,052, %3,84±0,087, %3,76±0,070, %3,42±0,143 olduğu ve balık bayatladıkça düştüğü, aynı şekilde lizin (sırasıyla; %5,40±0,048, 5,34±0,067, 5,23±0,044, 4,98±0,075), izolosin (sırasıyla; %3,18±0,161, 3,02±0,062, 2,93±0,063, 2,93±0,093), losin (sırasıyla; %7,22±0,071, 7,14±0,053, 7,14±0,028, 6,73±0,208), histidin (sırasıyla; %3,08±0,051, 2,79±0,084, 1,72±0,136, 1,22±0,015), arjinin (sırasıyla; %6,17±0,108, 5,91±0,052, 5,87±0,028, 5,83±0,107) ve methionin (sırasıyla; %2,68±0,032, 2,47±0,036, 2,48±0,034, 2,40±0,041) oranlarının da balık bayatladıkça azaldığı belirlenmiş olup farkın istatistikî olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Esansiyel olmayan amino asitler; glutamik asit (sırasıyla; %8,91±0,106, 8,78±0,128, 8,69±0,066, 8,54±0,070), asparajin (sırasıyla; %1,74±0,083, 1,58±0,149,

1,40±0,060, 1,36±0,041), prolin (sırasıyla; %3,07±0,112, 3,05±0,108, 3,00±0,109, 2,87±0,069), alanin (sırasıyla; %4,87±0,073, 4,73±0,080, 4,72±0,044, 4,62±0,033) değerlerinde balıkta meydana gelen bozulmaya paralel olarak azaldığı ve farkın istatistikî olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0,05). Esansiyel aminoasitlerin ham protein içerisindeki oranı balık bayatladıkça unda azaldığı görülmüştür. Tapia-Salazar (2004) balık bayatladıkça balık ununda lizin, histidin, arjinin ve tirozin değerlerinin azaldığını, Opstvedt vd., (2000) balık bayatladıkça unda lizin, histidin, arjinin ve tirozin oranlarının yaklaşık %6 azaldığını ve buna bağlı olarak biyojenik aminlerin (sırasıyla: putresin, kadaverin, tiramin ve histamin) değerlerinin arttığını bildirmişlerdir (Tablo 6). Bu sonuçlar araştırma sonuçlarımızı destekler mahiyettedir. Ortamdaki pH düzeyi ve bayatlamaya bağlı olarak bakteriler ve enzimler sonucunda aminoasitlerin serbest aminoasitlere ve biyojenik aminlere dönüşmesi sonucunda azaldığı düşünülmektedir (Saldamlı, 1998).

**Tablo 6.** Çalışmada elde edilen ortalama aminoasit miktarları ile balık ununda aminoasit oranlarını bildiren araştırmacıların sonuçları (g/100g).  
**Table 6.** The average amount of amino acids obtained in the study. Results of researchers reporting amino acid ratios in fish meal (g/100g).

	**		1		2		3		4		5	
	HU	RU	BBU	-	SU	-	RU	BBU	HU	SU	MU	
Lizin*	5,24	5,47	4,49	5,39	5,50	5,79	5,66	4,56	5,08	5,55	4,7	
Methionin*	2,51	2,06	1,69	1,94	1,46	1,62	2,14	1,72	1,94	1,95	1,77	
Triptofan*	1,23	0,85	0,59	0,75	0,66	0,42						
Histidin*	2,20	1,70	1,30	1,42	1,79	1,38						
Arjinin	5,94	4,12	4,16	5,01	4,38	4,39	4,61	4,16	3,67	3,25	3,58	
Threonin*	2,74	3,05	2,54	3,29	3,32	2,93	3,01	2,56	2,78	2,7	2,43	
Valin*	3,76	3,83	2,93	3,74	4,24	3,93						
İzolosin*	3,01	3,20	2,41	2,99	3,45	3,20						
Losin *	7,06	5,33	4,23	5,46	4,97	4,81						
Fenilalanin*	3,13	2,77	2,15	2,69	3,05	6,19						
Sistein	0,82	0,71	0,59	0,60	2,78							
Tirozin*	1,83	2,20	1,69	2,17	2,92							
Aspartik a,	5,80	6,46	5,53	6,81	6,63							
Serin	3,48	2,70	3,12	3,22	2,59							
Glutamik a,	8,73	9,09	8,32	9,72	9,08							
Prolin	3,00	2,98	3,45	2,77	3,18		4,2	5,3				
Glisin	2,44	4,26	6,44	3,81	3,85		6	9,9				
Alanin	4,74	4,47	4,10	4,64	4,24							
H,prolin	1,12											
Glutamin	1,15											

H,U: Hamsi unu, R,U: Ringa Balık unu, B,B,U: balık artıklarından elde edilen un S,U: Sardalya Balık unu, K,U: Karides Unu, M,U: Menhaden Balık unu, 1-Windsor, (2001), 2-Storebakken ve ark., (2000), 3-De Koning, (2005), 4- Arruda ve ark., (2006), 5- Fox ve ark., (2004), \*\* Mevcut çalışma, \*Esansiyel aminoasitler.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, balık ununda protein oranı balık tazeliği ve kurutma sıcaklığına göre değişim göstermektedir, Balık yem rasyonlarında balık unu protein kaynağı olarak kullanıldığından unda ham protein oranının maksimum düzeyde olması istenir. Balık ununda yüksek oranda protein elde edilebilmesi için ise kompozisyondaki ham yağ ve nem oranı düşürülmelidir. Tazelik gruplarında balık bayatladıkça ham yağ ve nem oranının arttığı belirlenmiştir. Bayat balıkların işlenmesi sırasında pres ünitesinin verimli çalışmadığı gözlemlenmiştir. Bunun için, balıkların taze olarak işlenmesi gerekir. Ayrıca evaporatör sistemi kullanan A ve B fabrikasının ham protein oranı evaporatör sistemi kullanmayan C fabrikasında göre daha yüksek belirlenmiştir. Bu açıdan

balık unu üretiminde evaporatör sistemi uygulanmalı ve çalıştırılmalıdır.

Balık ununda yağ asit ve amino asit kompozisyonunu da balık tazeliğinden etkilenmiştir. Özellikle balık yemlerinde bulunması istenen esansiyel aminoasit, EPA, DHA, omega3 ve omega6 miktarlarının balık bayatladıkça üretilen unda azaldığı tespit edilmiştir. Balığın taze olarak işlenmesi neticesinde balık ununda en kaliteli amino asit ve yağ asit kompozisyonu elde edilebilecektir.

Balık unu rengi hammadde tazeliği, kurutma sıcaklığı göre değişmektedir. Taze olarak A fabrikasında 100°C’de kurutulan balık unu B ve C fabrikalarında 80°C de kurutulan balık ununa göre daha parlak (renk L), kırmızılık (renk a) ve sarılık (renk b) değeri daha düşük olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmanın sonucunda T<sub>1</sub> ve T<sub>2</sub> tazelik gruplarından ve evaporatör sistemi kullanan A ve B fabrikalarında üretilen balık ununun ham proteini yüksek, aminoasit yapısı ile EPA ve DHA gibi yağ asitlerince zengin olduğu belirlenmiştir. Yüksek kaliteli balık unu elde etmek için taze hammadde evaporatör sistemi olan tesislerde işlenmelidir. Yüksek kaliteli ürünler ayrı bir depoda muhafaza altına alınıp etiketlenerek özel ürün olarak pazarlanması tavsiye edilmektedir. Ürünlerin pazarlanmasında uluslararası bağlantılar kurulması ve sanal pazarlama yöntemlerinin uygulanması daha etkin ticaret yapmak için faydalıdır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma, “TÜBİTAK 1002-TOVAG” Kapsamında 1080008 nolu “Balık Tazeliği ve Hammadde İşleme Sıcaklığının Balık Unu Kalitesi Üzerine Etkisi” isimli projesinden sağlanan bütçe ile gerçekleştirilmiştir.

## KAYNAKLAR

- Aksnes, A., & Mundheim, H., (1997). The impact of raw material freshness and processing temperature for fish meal on growth, feed efficiency and chemical composition of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, **149**, 87-106.
- Anderson, J.S., Lall, S.P., Anderson, D.M. & McNiven, M.A. (1993). Evaluation of protein quality in fish meals by chemical and biological assays. *Aquaculture*. **115**, 3057325.
- AOAC. (1990). Official methods of analysis of AOAC international. Edited Patricia Cunniff. Chapter 35, Fish and other marine products, AOAC official methods of analysis 938.08. Chapter 35, Chapter Editor James M. Hungerford. Published AOAC International, ISBN 0-935584-54-4 and ISSN 1080- 0344.
- Ariyawansa, S. (2000). *The evaluation of functional properties of fish meal*. Fisheries Training Programme. Final Project. 25p.
- Arruda, L.F., Borghesi, R., Brum, A., Regitano, M. & Oetterer, M. (2006). Nutritional aspects of Nile tilapia (*Oreochromis Niloticus*) silage. *Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas*, **26**(4), 749-753.
- Barlow, S.M. & Pike, I.E. (1977). *The role of fat in fish meal in pig and poultry nutrition*. Technical Bulletin No: 4, International Association of Fish Meal Manufacturers. Potters Bar, UK.
- Bayraklı, B. & Duyar, H.A. (2016). The Effect of Freshness on Meat Color and Chemical Composition of European Anchovy, *Engraulis encrasicolus*, caught by Purse Seine in the Black Sea, *Int'l Journal of Advances in Agricultural & Environmental Engg. (IJAAEE)*, **3**(2), ISSN 2349-1523 EISSN 2349-1531,
- Bayraklı, B. & Duyar, H.A. (2019a). Karadeniz’de Hamsi ununa alternatif olarak üretilen Çaça ununun besin bileşenlerinin karşılaştırılması. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, **4**(3), 545-550. DOI: [10.35229/jaes.636806](https://doi.org/10.35229/jaes.636806)
- Bayraklı, B. & Duyar, H.A. (2019b). The effect of raw material freshness on fish oil quality produced in fish meal & oil plant. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(3), 473-479. DOI: [10.35229/jaes.636002](https://doi.org/10.35229/jaes.636002)
- Bayraklı, B., Özdemir, S. & Duyar, H.A. (2019), Karadeniz’de Hamsi (*Engraulis encrasicolus*) ve Çaça (*Sprattus sprattus*) balıklarının avcılığı ile balık unu-yağı işleme teknolojisi üzerine bir araştırma. *Menba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, **5**(2), 9-16.
- Bling, E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid methods of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem, Phys.*, **37**, 911-917.
- Botta, J.R., Lauder, J.T. & Jewer, M.A. (1984). Effect of methodology on total volatile basic nitrogen (TVBN) determination as an index of quality of fresh Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Journal of Food Science*, **49**, 734-736.
- Caglak, E., Karsh, B. & Koral, S. (2020). The Effect of depuration on metals, bacteria, and nutrition in *Venus verrucosa* from the Aegean Sea: Benefit and risk for consumer health of warty Venus. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, **29**(6), 577-591. DOI: [10.1080/10498850.2020.1774691](https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1774691)
- Chamberlain, G.W. (1993), Aquaculture trends and feed projections. *World Aquaculture*, **24**(1), 19-29.
- Cho, H.O., Byun, M.W., Kwon, J.H. & Lee, J.W. (1987). Effect of gamma irradiation and ethylene oxide fumigation on the quality of dried marine products (shrimp, anchovy). *Kor. J. Food Hygiene*, **2**(1), 21-27,
- De Koning, A.J. (2005). Properties of South African fish meal: A review. *South African Journal of Science*, **101**(1-2), 21-25.
- De Silva, S.S. & Anderson, T.A. (1994). *Fish nutrition in aquaculture*. Chapman and Hall Aquaculture series 1. London, 319p.
- Dimova, N. (2003). RP-HPLC analysis of amino acids with UV-detection. *Comptes Rendus De l'Academie Bulgare Des Sciences*, **56**(12), 12-75.
- Duyar, H.A. & Bayraklı, B. (2005). Sinop ilinde bulunan su ürünleri işleme tesislerinin durumu, sorunları

- ve çözüm önerileri. *Su Ürünleri Mühendisleri Dergisi (SUMDER)*, **24**(4), 53-56.
- FAO. (1986).** *The production of fish meal and oil.* FAO Fisheries technical paper-142. FAO Fisheries Departman, Roma, İtaly.
- Fox, J.M., Lawrence, A.L. & Smith, F. (2004).** *Development of a fishmeal substitute- feed for growth and survival of Litopenaeus vannamei.* Proceedings of Avances en Nutrición Acuicola VII, November 16-19, Hermosillo, Mexico.
- Gooch, J.A., Hale, M.B., Brown, T., Bonnet, C.J., Brand, C.G. & Regier, L.W. (1987).** *Proximate and Fatty Acid Composition of 40 Southeastern U.S. Finfish Species.* NOAA Technical Report NMFS 54.
- Kristofersson, D. & Anderson, J.L. (2004).** Structural breaks in the fishmeal-soybean meal price relationship, Peer Review: No. In: Proceedings of the Twelfth Biennial Conference of the International Institute of Fisheries Economics & Trade, July 20- 30, 2004, Tokyo, Japan: What are Responsible Fisheries? Compiled by Ann L. Shriver. International Institute of Fisheries Economics & Trade, Corvallis, Oregon, USA, 2004. CD ROM, ISBN 0-9763432-0-7.
- Ludorff, W. & Meyer, V. (1973).** *Fische und fischerzeugnisse.* Verlag Paul Parey in Berlin und Hamburg, p: 125-130, ISBN: 3 489 71914.
- Ng, W.K., & Bahurmiz, O.M. (2009).** The impact of dietary oil source and frozen storage on the physical, chemical and sensorial quality of fillets from market-size red hybrid tilapia, *Oreochromis* sp. *Food Chemistry*, **113**(4), 1041-1048.
- Opstvedt, J., Mundheim, H., Nygard, E., Aase, H. & Pike, I.H. (2000).** Reduced growth and feed consumption of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed fish meal made from stale fish is not due to increased content of biogenic amines. *Aquaculture*, **188**, 323-337.
- Opstvedt, J., Aksnes, A., Hope, B. & Pike, I.H. (2003).** Efficiency of feed utilisation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets with increasing substitution of fish meal with vegetable proteins. *Aquaculture*, **221**, 365-379.
- Özdemir, S. (2010).** Karadeniz’de sürdürülebilir Hamsi (*Engraulius encrasicolus*, L.) avcılığında ortasu trolünün önemi. *I. Ulusal Hamsi Çalıştayı, Sürdürülebilir Balıkçılık, Bildiriler Kitabı*, (17-18 Haziran 2010) Trabzon, 129-135s.
- Özdemir, S., Erdem, Y., Satılmış, H.H. & Birinci Özdemir, Z. (2006),** Karadeniz’de ortasu trolü ile gece süresince avlanan hamsi (*Engraulis encrasicolus*, L. 1758)’nin av verimi ve boy kompozisyonunun belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, **23**(3-4), 417-421.
- Pike, I.H., Andorsdo’ttir, G. & Mundheim, H. (1990).** *The role of fish meal in diets for salmonids,* IAFMM Technical Bulletin No. 24, 2 College Yard, Lower Dagnall Street, St. Albans, Herts. AL3 4PA, UK, 1-35pp.
- Rezaei, M., Sahari, M.A. & Moeini, S. (2007).** Quality assessment of lipid in anchovy kilka (*Clupeonella engrauliformis*) during frozen storage at different temperature rates. *J. Sci. Technol. Agric. & Natur. Resour.*, **10**(4), 435-445.
- Ricque, D.M., La Para, M.I.A., Cruz-Suarez, L.E., Cuzon, G., Cousin, M. & Pike, I.H. (1998).** Raw material freshness, a quality criterion for fish meal fed to shrimp. *Aquaculture*, **165**, 95-109.
- Saldamlı, İ., 1998.** *Gıda Kimyası.* Hacettepe Üniversitesi Basımevi. Ankara, 528s.
- Schubring, R. & Meyer, C. (2002).** Quality factors of terrestrial snail products as affected by the species. *Journal of Food Science*. **67**, 31483151.
- Sifuentes, C.G., Aguilar, R.P., Sánchez, M.L., Sánchez, G.G., Suarez, J.C.R. & Carreño, G. (2009).** Properties of recovered solids from stick-water treated by centrifugation and pH shift. *Food Chemistry*, **114**, 197-203.
- Simopoulos, A.P. (2008).** The importance of the omega6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, **233**(6), 674-688.
- Simopoulos, A.P., Leaf, A. & Salem, N.Jr. (2000).** Statement on the essentiality of and recommended dietary intakes for  $\omega$ -6 and  $\omega$ -3 fatty acids, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, **63**, 119-121.
- Stansby, M.E., (1969).** *Nutritional properties of fish oils.* World Rev of Nutrition and Dietetics. Vol. 11, New-York, 46-105pp.
- Suzuki, H., Okazaki, K., Hayakawa, S., Wada, S. & Tamura, S. (1986).** Influence of commercial dietary fatty acids on polyunsaturated fatty acids of cultured freshwater fish and comparison with those of wild fish of the same species. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 58-60.
- Sümbüloğlu, K. & Sümbüloğlu, V.(2000).** *Biyoistatistik.* Hatiboğlu Yayınları No: 53, 9. Baskı, Ankara.
- Tapia-Salazar, M., Cruz-Suarez, L.E., Ricque, M.D., Pike, I.H., Smith, T.K., Haris, A., Nygard, E. & Opstvedt, J. (2004).** Effect of fishmeal made from stale versus fresh herring and of added crystalline biogenic amines on growth and survival of blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* fed practical diets. *Aquaculture*, **242**, 437-453.



- Tarladgis, B.G., Watts, B.M. & Yonathan, M. (1960).** Distillation Method for the Determination of Malonaldehyde in Rancid Foods. *J, Amer, Oil, Chem. Soc.*, **37**, 44-48.
- Webster, C.D., Tiu, L.G., Margan, A.M. & Gannam, A. (1999).** Effect of partial and total replacement of fishmeal on growth and body composition of sunshine bass, *Morone chrysops* X *M. saxatilis*, fed practical diets. *J, World Aquaculture Soc.*, **30**, 443-453.
- Windsor, M.L. (2001).** *Fish meal*. Department of trade and industry torry research station. Torry Advisory Note No, 49.



## Comparative Genomics Insight into Phytopathogenic *Xanthomonas arboricola* pathovar *corylina* Strains

Şafak KALINDAMAR

Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Ordu University, 52200, Ordu, Turkey

Received: 27 Kasım 2020

Accepted: 01 Şubat 2021

Published: 31 Mart 2021

How to cite: Kalındamar, Ş. (2021). Comparative genomics insight into phytopathogenic *Xanthomonas arboricola* pathovar *corylina* strains. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 66-71.

Atf yapmak için: Kalındamar, Ş. (2021). Fitopatojenik *Xanthomonas arboricola* patovar *corylina* suşlarına karşılaştırmalı genomik bakış. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 66-71.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0003-2897-9911>

\*Corresponding author's:

Şafak KALINDAMAR  
Department of Molecular Biology and  
Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Ordu  
University, 52200, Ordu, Turkey.  
✉: [safakkalindamar@odu.edu.tr](mailto:safakkalindamar@odu.edu.tr)

**Abstract:** *Xanthomonas arboricola* pathovar *corylina* (*Xac*) causes a bacterial blight disease (BBD) resulting in economic losses in young hazelnut trees worldwide. Although virulent *Xac* genomes were sequenced, there is no comparative genomics study on these genomes. In this study, all publicly available whole-genome sequences of *Xac* were compared by a comparative genomics approach. The results showed that *Xac* CFBP1159 and *Xac* CFBP2565 genomes are phylogenetically related to each other based on the orthology results. The genomic diversification of *Xac* strains was depended on mobile genetic elements. Interestingly, *Xac* NCCB100457 genome had additional motility genes than *Xac* CFBP1159 and *Xac* CFBP2565 genomes. All *Xac* genomes had shared virulence-related genes such as secretion systems and adherence factors. The comparative genomics approach of this study supports that *Xac* genomes have slight genetic variations, and the virulence-related proteins interacted with the host proteins. This comparative genomics approach will provide insights into the understanding of the *Xac* genomes.

**Keywords:** Comparative genomics, host-pathogen interaction, phytopathogenic, virulence, *Xanthomonas*.

## Fitopatojenik *Xanthomonas arboricola* patovar *corylina* Suşlarına Karşılaştırmalı Genomik Bakış

**Öz:** *Xanthomonas arboricola* patovar *corylina* (*Xac*), Dünya çapında genç fındık ağaçlarında ekonomik kayıplarla sonuçlanan fındık bakteriyel yanıklığı hastalığına neden olmaktadır. Virulent *Xac* suşlarının tüm genomları dizilenmiş olmasına rağmen, bu genomlar üzerinde bir karşılaştırmalı genomik çalışma yoktur. Bu çalışmada, *Xac* suşlarının halka açık tüm genom dizileri, karşılaştırmalı genomik yaklaşım kullanılarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, *Xac* CFBP1159 ve *Xac* CFBP2565 genomlarının, ortoloji sonucuna göre filogenetik olarak birbirleriyle daha yakın ilişkili olduğu saptanmıştır. *Xac* suşlarının genomik çeşitliliğinin mobil genetik elementlerle ilişkisi olduğu anlaşılmıştır. İlginç bir şekilde, *Xac* NCCB100457 genomu, *Xac* CFBP1159 ve *Xac* CFBP2565 genomlarından daha fazla motilite genlerine sahiptir. Tüm *Xac* genomları, sekresyon sistemleri ve adhezyon faktörleri gibi virülans ile ilgili ortak genlere sahiptir. Bu çalışmanın karşılaştırmalı genomik yaklaşımı, *Xac* genomlarının bazı genetik varyasyonlara sahip olduğu ve virülans ile ilgili proteinlerin konakçı proteinlerle etkileşime girdiğini desteklemektedir. Bu çalışmanın karşılaştırmalı genomik yaklaşımı, *Xac* genomlarının anlaşılması için bir öngörü sağlamıştır.

\*Sorumlu yazar:

Şafak KALINDAMAR  
Ordu Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,  
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,  
52200, Ordu, Türkiye.  
✉: [safakkalindamar@odu.edu.tr](mailto:safakkalindamar@odu.edu.tr)

**Anahtar kelimeler:** Bitki patojeni, karşılaştırmalı genomik, konak patojen ilişkisi, virülans, *Xanthomonas*.

## INTRODUCTION

*Xanthomonas arboricola* is primarily known as a Gram-negative phytopathogenic bacterium that can infect economically important plant species such as prunus, walnut, and hazelnut (Vauterin et al., 1995). *X. arboricola* pathovar-assigned strains are mostly described as pathogenic bacteria although there are *X. arboricola* strains considered non-pathogenic bacteria. Moreover, there are nine pathovar strains (*arracaciae*, *celebensis*, *corylina*, *fragariae*, *guizotiae*, *juglandis*, *populi*, *pruni*, and *zantesdeschiae*) identified in *X. arboricola* (Fischer-Le Saux et al., 2015). As one of the most virulent pathovars, *Xanthomonas arboricola* pathovar *corylina* (*Xac*) is a causative agent of BBD of hazelnut trees (*Corylus* spp.). The BBD was first described on *C. maxima* in the USA (Barss, 1913). Later, the disease has been increasingly reported on *C. avellana* from hazelnut producer countries in the European Union (Eppo, 2004). *Xac* has been also prevalently isolated from the hazelnut orchards in the Black Sea Region of Turkey, which is a major hazelnut producer in Europe (Karahan et al., 2013). The symptoms of BBD can appear on hazelnut tree's leaves and twigs. It has been also reported that the disease can also kill hazelnut trees or delay the growth of trees (Lamichhane et al., 2014).

The genus of *Xanthomonas* include a variety of plant pathogenic bacterial species, and these bacteria can utilize diverse virulence mechanisms such as secretion systems, effector proteins of diverse secretion systems,

flagella, and small RNAs (Timilsina et al., 2020). Recently, a comparative genomics study on virulent and non-virulent *Xanthomonas arboricola* pv. *pruni* (*Xap*) strains showed genomic differences between virulent and non-virulent *Xap* strains (Garita et al., 2017). On the other hand, the *Xac* strain was isolated from the leaf spots of *C. colurna* L. in Colorado, and the first DNA sequence of *Xac* was revealed in 2013 (Caballero et al., 2013). There are also sequences of two *Xac* genomes (*Xac* CFBP1159 and *Xac* CFBP2565) publicly stored in the National Center for Biotechnology Information (NCBI). However, these genomes were not used for any comparative genomics analysis.

Although several *Xac* genomes have been sequenced and their genomes were publicly available, there is no comparative genomics study on *Xac*'s genomes. Thus, the goal of this study was to compare *Xac* genomes that are publicly available in the NCBI database. This study provides a comparative insight into the comparison of *Xac* genomes, genomic variations, orthologous clusters at the protein level, annotation and gene predictions, prediction of virulence factors, and interactions of host-pathogen proteins.

## MATERIAL AND METHOD

**Bacterial genome data:** The *Xac* genomes data were obtained from NCBI (as of 01/11/2020). The *Xac* genomes were listed with features in Table 1.

**Table 1.** Genome features of *Xac* strains.

Species	Strain	Host	Location	Size (Mbp)	G+C	Level	Accession #	Reference
<i>Xac</i>	CFBP2565	<i>C. avellana</i>	France	5.05	65.6	Contig	NZ_MDSJ01000001.1	INRA
<i>Xac</i>	CFBP1159	<i>C. maxima</i>	USA	5.11	65.5	Scaffold	NZ_MDEA01000001.1	INRA
<i>Xac</i>	NCCB100457	<i>C. colurna</i>	USA	5.23	65.5	Contig	NZ_APMC02000173.1	Caballero et al., 2013

Location: country of origin, Level: genome assembly status, Mbp: million base pairs, *Xac*: *Xanthomonas arboricola* pathovar *corylina*, *C*: *Corylus*.

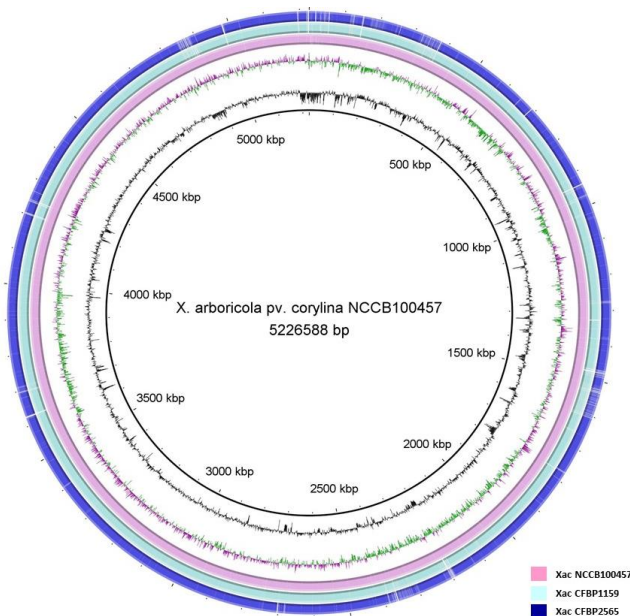
**Comparative genome analyses:** Blast Ring Image Generator (BRIG) was used to visualize the comparative genome analysis of *Xac* strains (Alikhan et al., 2011). The orthologous clusters of *Xac* strains at the protein level were calculated by using OrthoVenn2 (Wang et al., 2015). Prokaryotic Genomes Automatic Annotation Pipeline (NCBI PGAAP) and Rapid Annotation using Subsystem Technology (RAST) annotation pipelines were used for the annotation and gene prediction of bacterial genomes (Angiuoli et al., 2008; Overbeek, 2014). The potential protein-protein interactions between 3 of *Xac* whole proteins and the complete proteins of the eukaryotic host *C. avellana* (European hazelnut) genome (GenBank accession #: CAAJGP010000000) were determined using the Host-Pathogen Interaction Database (HPIDB) by the default upload options (Ammari et al., 2016; Kumar and Nanduri, 2010). The predicted putative virulence factors were determined by downloading the full dataset from the

Virulence Factors Database (VFDB) and by uploading them to BioEdit software (Lihong et al., 2016). The local BLAST feature of BioEdit was used with a cutoff E-value of  $10^{-50}$  (Hall, 1999).

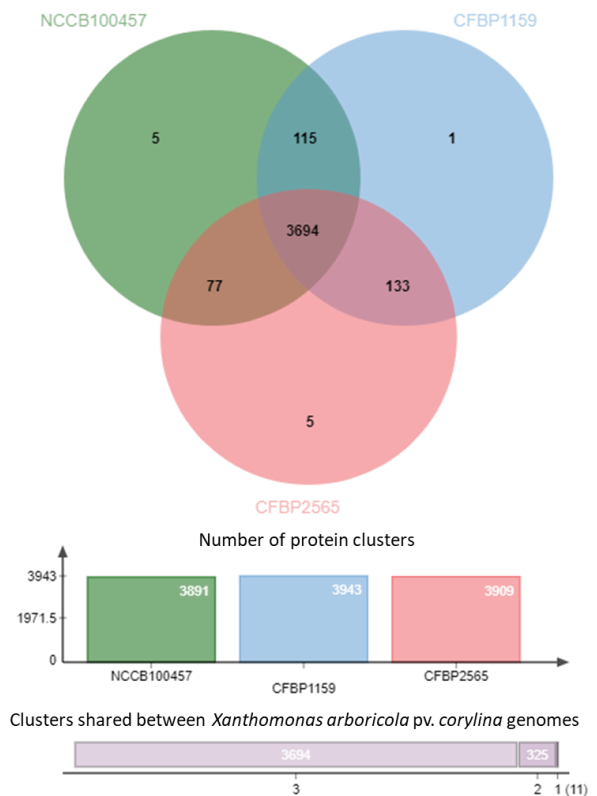
## RESULTS

**Genome features of *Xac* genomes:** The genomic information about *Xac* genomes (plant host, location, and genome-level) was summarized in Table 1. The three genomes of *Xac* was represented and stored in NCBI. The average genome size of *Xac* genomes is 5.13 million base-pairs (Mbp). The average G+C content of *Xac* genomes is 65.53 mol%. The NCBI genome data indicated that *Xac* genomes were isolated from different hazelnut species (Table 1). There are no plasmids sequences reported for *Xac* strains.

**Comparative analyses of Xac genomes:** The visualization of the comparison of genes by BRIG showed that most of the genes among all Xac genomes were conserved (Fig 1). In orthology analysis, the comparison of proteins encoded by Xac genomes was determined by OrthoVenn2 (Fig 2). All strains shared 3694 clusters of orthologous proteins. The unique protein clusters identified such as 1 cluster (Non-ribosomal peptide synthetase) in Xac CFBP1159, 5 clusters (Phage portal protein, P-type conjugative transfer protein TrbJ, DDE-type integrase/transposase) in Xac CFBP2565, and 5 clusters (SDR family oxidoreductase, UvrD helicase, virulence RhuM family protein, transcriptional regulator) in Xac NCCB100457 was unique to genomes. The annotation and categorization of genes based upon the RAST showed that there is a close relationship between Xac CFBP1159 and Xac CFBP2565 genomes in the subsystems categorization of genes (Fig 3). However, Xac NCCB100457 had slightly more genes in some subcategories compared to other Xac genomes. Interestingly, Xac NCCB100457 had motility and chemotaxis genes, which other Xac genomes do not encode any of these genes (Fig 3). In host-pathogen interactions (HPIs), the interactions were predicted between a total of 26 proteins of Xac and 34 proteins of *C. avellana* (Fig 4). The virulence factors detected in Xac genomes were categorized based on the function such as adherence, adhesion, and secretion systems (Table 2). The pathogen proteins interacted with the host proteins are listed in Table 3.



**Figure 1.** Comparative circular visualization of Xac genomes. The reference strain is Xac NCCB100457. The two inner rings represent the G+C content (black) and GC-skew (green/purple). The three outside rings represent a genomics comparison between Xac CFBP1159 and Xac CFBP2565 strains and the reference Xac NCCB100457 strain.



**Figure 2.** Venn diagram of protein clusters encoded by Xac genomes based on orthology. The Venn diagrams and bar charts show the numbers of unique and shared orthologous genes of each genome.

**Table 2.** Virulence factors of Xac strains.

Class	Virulence Factor	<i>Xanthomonas arboricola</i> pv. <i>corylina</i>		
		CFBP1159	CFBP2565	NCCB100457
Adherence	Type IV pili	+	+	+
Adhesion	Outer membrane protein	+	+	+
Adhesion	Autotransporter-like protein	+	+	+
Secretion system	Type II secretion system	+	+	+
Secretion system	Type III secretion system	+	+	+

(+): Presence of virulence factor in the genome.

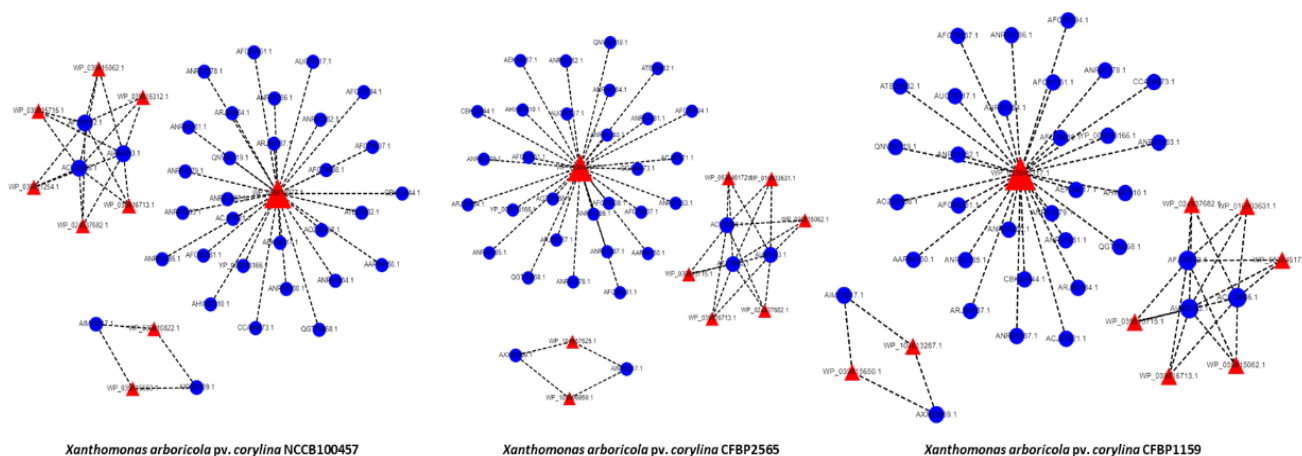
**Table 3** Predicted pathogen proteins in host-pathogen interactions.

Species	Protein ID	Pathogen Protein
Xac CFBP1159	WP_016903631.1	Diaminopimelate epimerase
	WP_024937682.1	ParA family protein
	WP_039815062.1	tRNA preQ1(34) S-adenosylmethionine ribosyltransferase-isomerase
	WP_039815650.1	Response regulator
	WP_039815715.1	Histidinol dehydrogenase
	WP_039816713.1	ParA family protein
	WP_053045317.1	Thioredoxin TrxC
	WP_053046172.1	Mannitol dehydrogenase family protein
	WP_104613287.1	CHASE3 domain-containing protein
	WP_016903631.1	Diaminopimelate epimerase
Xac CFBP2565	WP_024937682.1	ParA family protein
	WP_039815715.1	Histidinol dehydrogenase
	WP_039816713.1	ParA family protein
	WP_053045317.1	Thioredoxin TrxC
	WP_053046172.1	Mannitol dehydrogenase family protein
	WP_104566950.1	CHASE3 domain-containing protein
	WP_104567625.1	Response regulator
	WP_024937682.1	ParA family protein
	WP_039810077.1	Thioredoxin TrxC
	WP_039810822.1	CHASE3 domain-containing protein
Xac NCCB100457	WP_039811254.1	Diaminopimelate epimerase
	WP_039815062.1	tRNA preQ1(34) S-adenosylmethionine ribosyltransferase-isomerase
	WP_039815650.1	Response regulator
	WP_039815715.1	Histidinol dehydrogenase
	WP_039816312.1	Mannitol dehydrogenase, partial
	WP_039816713.1	ParA family protein

Xac: *Xanthomonas arboricola* pathovar *corylina*.

Strains	Subsystems																										
	Amino Acids and Derivatives	Carbohydrates	Membrane Transport	Protein Metabolism	Cofactors, Vitamins, Prosthetic Groups, Pigments	Respiration	DNA Metabolism	Stress Response	Fatty Acids, Lipids, and Isoprenoids	Nucleosides and Nucleotides	RNA Metabolism	Cell Wall and Capsule	Metabolism of Aromatic Compounds	Miscellaneous	Virulence, Disease and Defense	Regulation and Cell Signaling	Phosphorus Metabolism	Sulfur Metabolism	Potassium Metabolism	Iron Acquisition and Metabolism	Secondary Metabolism	Nitrogen Metabolism	Phages, Prophages, Transposable Elements, Plasmids	Dormancy and Sporulation	Motility and Chemotaxis	Cell Division and Cell Cycle	Photosynthesis
Xanthomonas arboricola pv. corylina CFBP1159	288	207	185	184	131	93	88	79	66	55	41	31	29	27	25	25	23	17	11	11	8	6	2	1	0	0	0
Xanthomonas arboricola pv. corylina CFBP2565	288	208	180	182	129	93	87	79	64	55	39	28	29	27	23	26	23	17	11	6	8	6	3	1	0	0	0
Xanthomonas arboricola pv. corylina NCCB100457	295	217	197	192	129	93	103	80	70	57	41	29	29	28	28	26	26	19	11	11	8	6	0	1	27	0	0
	Number of Genes																										
	295	288	208	180	129	103	80	70	55	39	29	17	8	0													

**Figure 3.** SEED subsystem categorization and RAST annotation of *Xac* genomes. The colors indicate the number of functional categorization of genes in *Xac* genomes.



**Figure 4.** Visualization of predicted interactions network of host *C. avellana* proteins and bacterial *Xac* proteins. The shapes and colors represent host proteins (blues circles) and bacterial proteins (red triangles).

## DISCUSSION AND CONCLUSION

In this research, all publicly available genomes of *Xac* were analyzed by comparative genomics methods. This is the first comparative genomics analysis of *Xac* genomes isolated from three different hazelnut species.

Orthology analysis provides more accurate information about the phylogenetic relationship between closely related bacterial strains (Ullah et al., 2015). Based on the orthology analysis of *Xac* genomes in this study, *Xac* CFBP1159 and *Xac* CFBP2565 genomes are more closely related than *Xac* NCCB100457 genome. On the other hand, *Xac* strains share 3694 orthologous clusters. The genetic differences among genomes depend on mobile elements. This finding suggests that genetic differentiation of *Xac* genomes is linked to the acquisition of different mobile elements. Interestingly, *Xac* NCCB100457 genome possesses additional motility and chemotaxis gene sets.

This variation may be related to location and host adaptation.

The prediction of potential interactions between host and pathogen proteins may provide valuable information about an infection process (Durmus et al., 2015). The HPIs analysis in this study showed that a total of 26 proteins of *Xac* proteins interacted with host *C. avellana* proteins. These results confirm that multiple potential interactions occur between *Xac* and *C. avellana* in the host-pathogen interactions. Thus, the HPIs result demonstrated evidence of *Xac* virulence during infection. Determination of virulence factors of bacterial pathogens is important to understand the pathogenesis of bacteria during the infection process (Wu et al., 2008). The whole-genome sequencing of *Xac* strains enables identifying virulence-related factors. Identification of virulence factors in this study revealed that *Xac* genomes have important virulence-related factors such as type II secretion system (T2SS), type III secretion system (T3SS), and adhesion

factors (Table 2). The bacterial adhesion of *Xanthomonas* strains is crucially important for the invasion of plant tissue during the diseases process (Mhedbi-Hajri et al., 2011). While *Xac* strains invade plant tissues, degradative enzymes and secretion system-dependent effector proteins play a major role in establishing a successful bacterial infection. For example, T3SS and effector proteins are identified as important virulence factors in plant immunity suppression by *Xac* strains (Hajri et al., 2011; Jacques et al., 2016). In addition to T3SS, T2SS also plays an important role in secreting a variety of degradation enzymes in the genus of *Xanthomonas* (Szczeny et al., 2010). Overall, these virulence factors may contribute to the bacterial pathogenicity of *Xac* strains in the host.

As a result, the comparative genomics data presented in this study showed that *Xac* strains are closely related to each other. The virulence-related factors of *Xac* strains are also important in host-pathogen interactions.

#### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Department of Molecular Biology and Genetics, Faculty of Arts and Sciences, Ordu University, Turkey.

#### REFERENCES

- Alikhan, N.F., Petty, N.K., Ben Zakour, N.L. & Beatson, S.A. (2011).** Blast ring image generator (BRIG): simple prokaryote genome comparisons. *BMC Genomics*, *12*, 402.
- Ammari, M.G., Gresham, C.R., McCarthy, F.M. & Nanduri, B. (2016).** HPIDB 2.0: a curated database for host-pathogen interactions. *Database*, (Oxford), *2016*, baw103.
- Angiuoli, S.V., Gussman, A., Klimke, W., Cochrane, G., Field, D., Garrity, G., Kodira, C.D., Kyrpides, N., Madupu, R., Markowitz, V., Tatusova, T., Thomson, N. & White, O. (2008).** Toward an online repository of Standard Operating Procedures (SOPs) for (meta) genomic annotation. *OMICS*, *12*, 137-141.
- Barss, H.P. (1913).** A new filbert disease in Oregon. *Oregon Agricultural Experiment Station Biennial Crop Pest and Horticulture Report*, *14*, 213-23.
- Caballero, J.I., Zerillo, M.M., Snelling, J., Boucher, C. & Tisserat, N. (2013).** Genome sequence of *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*, isolated from Turkish Filbert in Colorado. *Genome Announcement*, *1*(3), e00246-13. DOI: [10.1128/genomeA.00246-13](https://doi.org/10.1128/genomeA.00246-13)
- Durmus, S., Cakir, T., Ozgur, A. & Guthke, R. (2015).** A review on computational systems biology of pathogen-host interactions. *Frontiers in Microbiology*, *6*, 235. DOI: [10.3389/fmicb.2015.00235](https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00235)
- EPPO. 2004. (2004).** Diagnosis protocols for regulated pests *Xanthomonas arboricola* pv. *corylina*. *EPPO Bulletin*, *34*, 155-7.
- Fischer-Le Saux, M., Bonneau, S., Essakhi, S., Manceau, C. & Jacques, M.A.A. (2015).** Aggressive emerging pathovars of *Xanthomonas arboricola* represent widespread epidemic clones distinct from poorly pathogenic strains, as revealed by multilocus sequence typing. *Applied Environmental Microbiology*, *81*, 4651-4668. <https://doi.org/10.1128/AEM.00050-15>
- Garita, C.J., Palacio-Bielsa, A., López, M.M. & Cubero, J. (2017).** Pan-Genomic analysis permits differentiation of virulent and non-virulent Strains of *Xanthomonas arboricola* that Cohabit *Prunus* spp. and elucidate bacterial virulence factors. *Frontiers in Microbiology*, *8*, 573. DOI: [10.3389/fmicb.2017.00573](https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00573)
- Hajri, A., Pothier, J.F., Saux, M.F.L. Bonneau, S., Poussier, S., Boureau, T., Duffy, B. & Manceau, C. (2011).** Type three effector gene distribution and sequence analysis provide new insights into the pathogenicity of plant-pathogenic *Xanthomonas arboricola*. *Applied and Environmental Microbiology*, *78*(2), 371-384. DOI: [10.1128/AEM.06119-11](https://doi.org/10.1128/AEM.06119-11)
- Hall, T.A. (1999).** BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, *41*, 95-98.
- Jacques, M.A., Arlat, M., Boulanger, A., Boureau, T., Carrère, S., Cesbron, S., Chen, N.W., Cociancich, S., Darrasse, A., Denancé, N., Fischer-Le Saux, M., Gagnevin, L., Koebnik, R., Lauber, E., Noël, L.D., Pieretti, I., Portier, P., Pruvost, O., Rieux, A., Robène, L., Royer, M., Szurek, B., Verdier, V. & Vernière, C. (2016).** Using Ecology, Physiology, and Genomics to Understand Host Specificity in *Xanthomonas*. *Annual Reviews Phytopathology*, *4*(54), 163-87. DOI: [10.1146/annurev-phyto-080615-100147](https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100147)
- Karahan, A., Altundağ, Ş., Duran, H. & Kılınc, A.O. (2013).** Karadeniz Bölgesinde fındık bakteriyel yanıklığı [*Xanthomonas arboricola* pv. *corylina* (Miller et al.) Vauterin et al.] hastalığının yaygınlığı üzerine araştırmalar. *Bitki Koruma Bülteni*, *53*(3), 159-174.
- Kumar, R. & Nanduri, B. (2010).** HPIDB - a unified resource for host-pathogen interactions. *BMC Bioinformatics*, *11*(6), S16. DOI: [10.1186/1471-2105-11-S6-S16](https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-S6-S16)
- Lamichhane, J.R. & Varvaro, L. (2014).** *Xanthomonas arboricola* disease of hazelnut: current status and future perspectives for its management. *Plant Pathology*, *63*(2), 243-254. DOI: [10.1111/ppa.12152](https://doi.org/10.1111/ppa.12152)
- Lihong, C., Dandan, Z., Bo, L., Jian, Y. & Qi, J. (2016).** VFDB 2016: hierarchical and refined dataset for big data analysis-10 years on. *Nucleic Acids*

- Research*, **44**, D694-D697. DOI: [10.1093/nar/gkv1239](https://doi.org/10.1093/nar/gkv1239)
- Mhedbi-Hajri, N., Darrasse, A., Pigne, S., Durand, K., Fouteau, S., Barbe, V., Manceau, C., Lemaire, C. & Jacques, M.A. (2011).** Sensing and adhesion are adaptive functions in the plant pathogenic xanthomonads. *BMC Evolutionary Biology*, **11**, 67.
- Overbeek, R., Olson, R., Pusch, G.D., Olsen, G.J., Davis, J.J., Disz, T., Edwards, R.A., Gerdes, S., Parrello, B., Shukla, M., Vonstein, V., Wattam, A.R., Xia, F. & Stevens, R. (2014).** The SEED and the Rapid Annotation of microbial genomes using Subsystems Technology (RAST). *Nucleic Acids Research*, **42**, D206-D214. DOI: [10.1093/nar/gkt1226](https://doi.org/10.1093/nar/gkt1226)
- Szczesny, R., Jordan, M., Schramm, C., Schulz, S., Cogež, V., Bonas, U. & Büttner, D. (2010).** Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *New Phytologist*, **187**(4), 983-1002. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2010.03312.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03312.x)
- Timilsina, S., Potnis, N., Newberry, E.A., Liyanapathiranage, P., Iruegas-Bocardo, F., White, F.F., Goss, M.M. & Jones, J.B. (2020).** *Xanthomonas* diversity, virulence and plant-pathogen interactions. *Nature Reviews Microbiology*, **18**, 415-427.
- Ullah, I., Sjöstrand, J., Andersson, P. & Sennblad, B. (2015).** Integrating sequence evolution into probabilistic orthology analysis. *Systematic Biology*, **64**(6), 969-982. DOI: [10.1093/sysbio/syv044](https://doi.org/10.1093/sysbio/syv044)
- Vauterin, L., Hoste, B., Kersters, K. & Swings, J. (1995).** Reclassification of *Xanthomonas*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **45**(3), 472-489. DOI: [10.1099/00207713-45-3-472](https://doi.org/10.1099/00207713-45-3-472)
- Wang, Y., Coleman-Derr, D., Chen, G. & Gu, Y.Q. (2015).** OrthoVenn: a web server for genome wide comparison and annotation of orthologous clusters across multiple species. *Nucleic Acids Research*, **43**, W78-W84. DOI: [10.1093/nar/gkv487](https://doi.org/10.1093/nar/gkv487)
- Wu, H.J., Wang, A.H.J. & Jennings, M.P. (2008).** Discovery of virulence factors of pathogenic bacteria. *Current Opinion in Chemical Biology*, **12**(1), 93-101. DOI: [10.1016/j.cbpa.2008.01.023](https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.01.023)



## Zorkal Yaylasının (İkizdere-RİZE) Mera Özellikleri ve Botanik Kompozisyonun Belirlenmesi

Adil BAKOĞLU<sup>1</sup> Hüseyin BAYKAL<sup>1</sup> Muhammed İkbal ÇATAL<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Pazar Meslek Yüksek Okulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Rize, Türkiye.

<sup>2</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Rize, Türkiye.

Geliş Tarihi: 27 Ağustos 2020

Kabul Tarihi: 12 Şubat 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Bakoğlu, A., Baykal, H. & Çatal M.İ. (2021). Zorkal Yaylasının (İkizdere-RİZE) Mera Özellikleri ve Botanik Kompozisyonun Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 72-76.

How to cite: Bakoğlu, A., Baykal, H. & Çatal M.İ. (2021). Determination of Pasture Characteristics and Botanical Composition of Zorkal Plateau (İkizdere-RİZE). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 72-76.

<https://orcid.org/0000-0003-1189-8461>  
 <https://orcid.org/0000-0001-6428-6915>  
 <https://orcid.org/0000-0002-4888-770X>

**\*Sorumlu yazarın:**

Muhammed İkbal ÇATAL  
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Ziraat  
Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü,  
Pazar/Rize, Türkiye.  
 [muhammed.catal@erdogan.edu.tr](mailto:muhammed.catal@erdogan.edu.tr)

**Öz:** Bu çalışma Rize ili İkizdere ilçesi Zorkal yaylası merasında 2019 yılı içerisinde gerçekleştirilmiştir. Çalışmada meranın toprağı kaplama oranı, botanik kompozisyonu, mera kalite derecesi ve mera durumu karakterleri incelenmiştir. Arazi çalışması, Temmuz ayı içinde, vejetasyonun klimaks evreye ulaştığı safada yapılmıştır. Araştırma alanında örnek parseller "Lup" yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Araştırma alanında 21 familya ve 43 cinsine ait toplam 47 takson teşhis edilmiştir. Familyaların takson sayıları; *Poaceae* (5), *Fabaceae* (4), *Asteraceae* (7), *Apiaceae* (3), *Brassicaceae* (2), *Campanulaceae* (1), *Caprifoliaceae* (1), *Caryophyllaceae* (2), *Crassulaceae* (1), *Cyperaceae* (1), *Gentianaceae* (1), *Geraniaceae* (2), *Lamiaceae* (4), *Juncaceae* (1), *Orobanchaceae* (2), *Plantaginaceae* (1), *Polygonaceae* (2), *Primulaceae* (1), *Ranunculaceae* (2), *Rosaceae* (3), *Rubiaceae* (1) şeklindedir. Mera alanının toprağı kaplama oranı % 83.40 olarak belirlenmiştir. Çalışma alanının botanik kompozisyonunda *Poaceae* % 13.07, *Fabaceae* % 28.11 ve diğer familyalar % 58.82 olarak tespit edilmiştir. 2.65 mera kalite derecesi ile meranın durumu "Zayıf" olarak belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Botanik kompozisyon, mera özellikleri, Rize, toprağı kaplama oranı, Zorkal yaylası.

## Determination of Pasture Characteristics and Botanical Composition of Zorkal Plateau (İkizdere-RİZE)

**Abstract:** This study was carried out in 2019 at the pasture of Zorkal plateau in İkizdere district of Rize province. In the study, canopy coverage rate, botanical composition, pasture quality degree and pasture condition characters were studied. The field study was carried out in July, when the vegetation reached the climax phase. Sample plots in the research area were determined using the "Lup" method. In the research area, 47 taxa were identified in 21 families and 43 genera. Taxa numbers of families; *Poaceae* (5), *Fabaceae* (4), *Asteraceae* (7), *Apiaceae* (3), *Brassicaceae* (2), *Campanulaceae* (1), *Caprifoliaceae* (1), *Caryophyllaceae* (2), *Crassulaceae* (1), *Cyperaceae* (1), *Gentianaceae* (1), *Geraniaceae* (2), *Lamiaceae* (4), *Juncaceae* (1), *Orobanchaceae* (2), *Plantaginaceae* (1), *Polygonaceae* (2), *Primulaceae* (1), *Ranunculaceae* (2), *Rosaceae* (3), *Rubiaceae* (1). The canopy coverage rate of pasture area was determined as 83.40%. The botanical composition of the study area was determined as *Poaceae* 13.07%, *Fabaceae* 28.11% and other families 58.82%. With a pasture quality degree of 2.65, the condition of the pasture was determined as "Weak".

**Keywords:** Botanical composition, canopy coverage rate, pasture characteristics, Rize, Zorkal plateau.

## GİRİŞ

Çayır ve meralar, ülkenin önemli doğal kaynakları olmasının yanı sıra hayvanların ihtiyacı olan kaba yemin en ucuz karşılandığı alanlardır. Bu özelliklerinin yanında biyolojik çeşitlilik sağlaması, kültür bitkileri için gen kaynağı olması, yaban hayvanlarına barınma alanı sağlaması

ve toprak yüzeyinde kalkan görevi görerek erozyona karşı korumasıyla çok önemli görevleri de vardır (Açıkgöz, 2001).

Türkiye topraklarının 14.6 milyon ha'nını (TÜİK, 2019) ve Rize ilinin ise 45.332 ha alanı (Anonim, 2018) oluşturan çayır meralar, uygun olmayan kullanım sonucu bitki örtüsü ve verim potansiyeli ile ot kalitesi düşmüştür (Gökkuş, 1991). Bu durum ülke hayvancılığı ve ekonomisini olumsuz etkilediği gibi, toprak ve su kaynaklarının da tahrip



olmasına yol açmaktadır. Bu sorunların çözülebilmesi için ot verimi ve kalitesi düşmüş olan meraların ıslah edilerek yeniden yüksek verime sahip kaliteli yem üretir duruma getirilmeleri gerekir. Ancak, mera ıslahında başarılı olabilmek için, öncelikle ıslah edilecek meranın vejetasyon yapısının iyi bilinmesi önemlidir (Çınar vd., 2019). Vejetasyon yapısının iyi bilinmesi amacıyla yapılacak olan çalışmalardan biri de, o bölgeye ait vejetasyonla ilgili botanik kompozisyon çalışmalarının yapılmasıdır.

Ülkemizde son yıllarda yapılan botanik kompozisyon ile ilgili çalışmalara baktığımızda: Babalık ve Sarıkaya, (2015) yaptığı çalışmada mera alanının botanik kompozisyonunun % 63.51'i buğdaygillerden, % 16.39'ı baklagillerden ve % 20.10'u diğer familyalardan oluştuğunu; Çaçan ve Başbağ, (2016) mera alanının % 68.19'unun bitki ile kaplı olduğunu ve botanik kompozisyonun % 17.39'unu buğdaygiller, % 21.09'unu baklagiller ve % 61.52'sini diğer familya bitkilerinin oluşturduğunu bildirmiştir. Babalık ve Ercan, (2018) çalışma alanının bitkiyle kaplı alanı % 51.2, mera alanının botanik kompozisyonunun yaklaşık % 44'ünü buğdaygiller, % 23'ünü baklagiller ve % 33'ünü de diğer familyalardan oluştuğu; Çınar vd., (2019) yaptığı çalışmada bitki ile kaplı alanda buğdaygiller oranı ortalaması % 36.9, baklagiller oranı ortalaması % 22.0 ve diğer familya bitkileri oranı ortalaması % 41.1, mera kalite derecelerinin 2.40-3.92 arasında değiştiği ve meraların durum sınıfının zayıf olduğunu belirtmiştir. Bakoğlu vd., (2019) Rize ili Handüzü yaylasında yaptığı çalışmada, toprağı kaplama oranını % 82.4, toprağı kaplama alanına göre buğdaygillerin botanik kompozisyonundaki oranını % 33.37, baklagillerin oranını % 5.75 ve diğer familyaların oranını % 60.88 bulduğı ve 2.456 mera kalite derecesi ile meranın durumunun zayıf olduğunu; Çatal vd., (2019) Rize ili Ovit yaylasında yaptığı çalışmada, toprağı kaplama oranını % 63.4; botanik kompozisyonunda buğdaygillerin oranı % 39.35, baklagillerin oranı % 6.61 ve diğer familyaların oranı da % 54.04 olarak tespit ettiğini ve 1.976 mera derecesi ile meranın durumunu çok zayıf bulduğı; Baykal vd., (2020) Rize ilinin Palovit yaylası merasında yaptığı çalışmada, toprağı kaplama oranını % 70.75, botanik kompozisyonunda buğdaygiller, baklagiller ve diğer familyaların oranını sırasıyla % 54.98, 2.88, 42.14 olarak tespit ettiğı ve 2.383 mera derecesi ile meranın durumunu zayıf bulduğı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir.

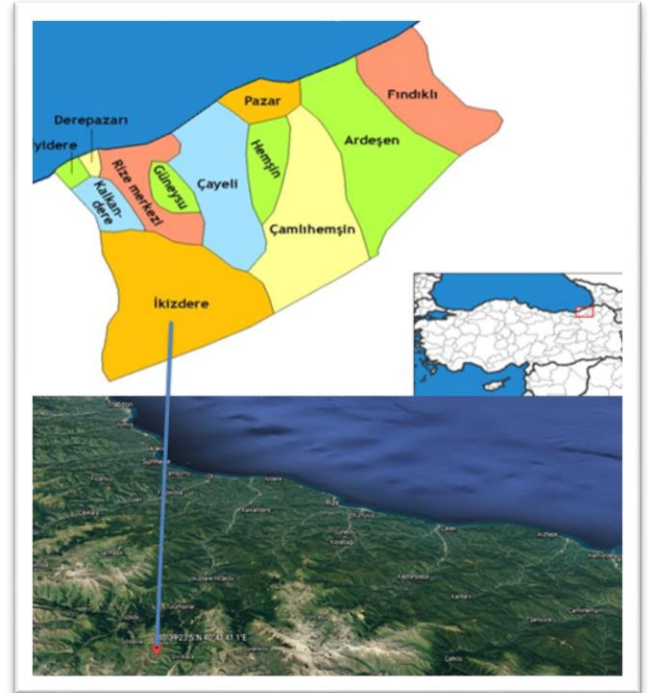
Rize ili yaylalarında florsitik bazı çalışmalar (Baykal & Atamov, 2016; Baykal & Atamov, 2018; Baykal vd., 2018; Baykal, 2019) yapılmıştır. Rize meralarında ise botanik kompozisyonun belirlenmesi ile ilgili çalışmalar (Bakoğlu vd., 2019; Çatal vd., 2019; Baykal vd., 2020) yapılmış olmasına rağmen, Zorkal yaylasının botanik kompozisyonunun belirlenmesine yönelik herhangi bir çalışma yoktur. Çalışmanın temel amacı Zorkal yaylasının

botanik kompozisyonu, toprağı kaplama oranı ve mera kalite derecesi ve mera durumunun tespit edilmesidir.

## MATERYAL VE METOT

**Çalışma Alanı:** Bu çalışma 2019 yılında Rize ili İkizdere ilçesine bağlı deniz seviyesinden ortalama 2650 m yükseklikte (N: 40° 39' 23,5; E: 40° 41' 41,1") ve ilçeye 23.4 km uzaklıkta bulunan Zorkal yaylasında gerçekleştirilmiştir (Şekil 1).

Araştırma alanının uzun yıllar sıcaklık ortalaması 14.3°C, yağış miktarı 2296 mm ve nisbi nemi % 80 olarak belirlenmiştir (Anonim, 2019).



**Şekil 1:** Çalışma alanının konumu.  
**Figure 1:** Location of the study area.

**Materyal ve Metod:** Arazi çalışmaları 2019 yılında, Zorkal yaylası subalpin mera alanlarında vejetasyonunun tam olgunlaşma zamanında Temmuz ayı içerisinde yapılmıştır. Araştırmanın materyalini mera vejetasyonundan elde edilen bitki örnekleri oluşturmuştur. Her bir takson için 3 bitki toplanmış olup, herbaryum kurallarına göre (Erik vd., 1996) kurutularak kartonlara yapıştırılmış ve Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Pazar Meslek Yüksekokulu'nda koruma altına alınmıştır. Bitki örnekleri Türkiye ve Ege Adaları Florası (Davis, 1965-1985; Davis vd., 1988; Güner vd., 2000) yardımı ile teşhis edilmiştir. Familya, takson (Türkçe adlar dahil) ve yazar adları sırası ile Güner vd., (2012)'e göre verilmiştir.

Meranın vejetasyon özellikleri Lup metodu kullanılarak yapılmıştır. Lup hattı 20 m uzunlukta, iki lup arası ölçüm mesafesi 20 santimetre olacak şekilde, bir Lup

hattında toplam 100 Lup değeri ölçülmüştür. Botanik kompozisyonun belirlenmesinde her bir lup içerisine düşen bitki taksonu ölçüm cetveline kaydedilmiştir. Lup içerisine düşen, bitki örnekleri bütün organları ile birlikte toplanıp, teşhis edilmiştir.

**İstatistikî Analiz:** Meranın botanik kompozisyonun belirlenmesinde Tosun, (1968)'un belirttiği esaslar dikkate alınarak her bir ana hat üzerinde 10 Lup hat olacak şekilde 5 ana hat ölçülmüştür. Lup ölçümlerinde bitkiye rastlanılan Lup alanlarının, toplam Lup alanına bölünmesiyle toprağı kaplama alanı belirlenmiştir (Gökkuş vd., 1993). Botanik kompozisyonda yer alan bitkilere Gökkuş vd., (1993) ve Bakoğlu (1999)'nun belirttikleri esaslar dahilinde ve Anonim (2008)'de bitkilerin yem olarak değerlendirilmesi durumuna göre -1 ile 10 arasında puanlar verilmiş, daha sonra botanik kompozisyondaki oranları ile çarpılarak, tüm

taksonlara ait değerlerin toplanmasıyla mera kalite derecesine göre (Tablo 1), mera durum sınıfı belirlenmiştir.

**Tablo 1:** Mera Durumu Skalası (De Vries vd., 1951).

**Table 1:** Pasture condition Scale (De Vries vd., 1951).

Kalite Derecesi	Mera Durumu
8.1 -10	Çok iyi
6.1 - 8	İyi
4.1 - 6	Orta
2.1 - 4	Zayıf
0.0 - 2	Çok Zayıf

## BULGULAR

Çalışmada tespit edilen bitkilerin listesi, familyası, toprağı kaplama ve botanik kompozisyon oranı ve mera dereceleri Tablo 2'de verilmiştir.

Familyaların toprağı kaplama ve botanik kompozisyon oranları Şekil 2'de, familyalara göre takson sayıları Şekil 3'de verilmiştir.

**Tablo 2.** Zorkal yaylasının mera alanında bulunan bitkilerin familyaları, taksonları, değer sayıları, toprağı kaplama ve botanik kompozisyon oranları, mera dereceleri.

**Table 2.** Families, taxa, value numbers, canopy coverage and botanical composition rates, pasture degree of the plants in the pasture area of Zorkal plateau.

Familiya	Takson ismi	Türkçe	DS	TKO	BK	MD	
<b>POACEAE</b>							
1	<i>Poaceae</i>	<i>Poa pratensis</i> L.	Çayıralkmotu	7	3,20	4,29	0,30
2	<i>Poaceae</i>	<i>Phleum alpinum</i> L.	Alpıtıkyruğı	4	1,40	1,55	0,06
3	<i>Poaceae</i>	<i>Festuca drymeja</i> Mert. & W.D.J.Koch	Çalıtımağı	2	3,40	3,76	0,08
4	<i>Poaceae</i>	* <i>Helictotrichon argaeum</i> (Boiss.) Parsa	Erceyulaf	2	2,60	2,87	0,06
5	<i>Poaceae</i>	<i>Nardus stricta</i> L.	Kilotu	3	0,60	0,60	0,02
			<b>Toplam</b>		<b>11,20</b>	<b>13,07</b>	<b>0,51</b>
<b>FABACEAE</b>							
1	<i>Fabaceae</i>	<i>Trifolium canescens</i> Willd.	Sarı üçgül	7	9,80	10,93	0,77
2	<i>Fabaceae</i>	<i>Trifolium repens</i> L. var. <i>repens</i>	Ak üçgül	8	5,80	6,40	0,51
3	<i>Fabaceae</i>	<i>Vicia canescens</i> Labill. subsp. <i>variegata</i> (Willd.) P.H.Davis	Alaca fiğ	5	4,80	5,81	0,29
4	<i>Fabaceae</i>	<i>Coronilla coronata</i> L.	Burçak	-1	4,60	4,97	-0,05
			<b>Toplam</b>		<b>25,00</b>	<b>28,11</b>	<b>1,52</b>
<b>DİĞER FAMILİYALAR</b>							
1	<i>Asteraceae</i>	<i>Achillea setacea</i> Waldst. & Kit.	Ayvabala	0	1,20	1,35	0,00
2	<i>Asteraceae</i>	* <i>Anthemis cretica</i> L. subsp. <i>argaea</i> (Boiss. & Balansa) Grierson	Esmer papatya	2	0,20	0,24	0,00
3	<i>Asteraceae</i>	<i>Cirsium frickii</i> Fisch. & C.A.Mey.	Çayır kangalı	0	0,40	0,59	0,00
4	<i>Asteraceae</i>	<i>Crepis paludosa</i> (L.) Moench	Su kıskısı	1	1,20	1,40	0,01
5	<i>Asteraceae</i>	<i>Erigeron caucasicus</i> Steven subsp. <i>caucasicus</i>	Kafşifaotu	1	0,80	0,92	0,01
6	<i>Asteraceae</i>	* <i>Psephellus appendicigerus</i> (K.Koch) Wagenitz	Ovit tülübaşı	0	1,00	1,05	0,00
7	<i>Asteraceae</i>	<i>Solidago virgaurea</i> L.	Altıbaşak çiçeğı	0	0,60	0,69	0,00
8	<i>Apiaceae</i>	<i>Carum meifolium</i> (M.Bieb.) Boiss.	Bağdanaz	0	1,80	2,04	0,00
9	<i>Apiaceae</i>	<i>Seseli libanotis</i> Koch	Dağ havucu	0	0,80	0,93	0,00
10	<i>Apiaceae</i>	<i>Chaerophyllum astrantiae</i> Boiss. & Balansa ex Boiss.	Yılandokotu	2	0,80	0,93	0,02
11	<i>Brassicaceae</i>	<i>Alyssum murale</i> Waldst. & Kit. subsp. <i>murale</i> var. <i>alpinum</i> Boiss. ex Nyár.	Seki kuduzotu	0	0,40	0,71	0,00
12	<i>Brassicaceae</i>	<i>Draba huetti</i> Boiss.	Çayır dolaması	0	1,00	1,09	0,00
13	<i>Campanulaceae</i>	<i>Campanula rapuncululus</i> L. subsp. <i>rapuncululus</i>	Firenk salatası	0	0,60	0,66	0,00
14	<i>Caprifoliaceae</i>	<i>Scabiosa caucasica</i> M.Bieb.	Zarif uyuzotu	2	0,40	0,46	0,01
15	<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Cerastium purpurascens</i> Adams	Alaca boynuzotu	3	0,40	0,46	0,01
16	<i>Caryophyllaceae</i>	<i>Silene vulgaris</i> (Moench) Garcke var. <i>vulgaris</i>	Ecibücü	1	0,80	1,43	0,01
17	<i>Crassulaceae</i>	<i>Sedum album</i> L.	Çoban kavurgası	0	1,00	1,00	0,00
18	<i>Cyperaceae</i>	<i>Carex atrata</i> L. subsp. <i>aterrima</i> (Hoppe) Hartm.	Gece saparnası	1	0,60	0,70	0,01
19	<i>Gentianaceae</i>	<i>Gentiana septemfida</i> Pall.	Yedi gentiyan	4	1,60	2,35	0,09
20	<i>Geraniaceae</i>	<i>Geranium platypetalum</i> Fisch. & C.A.Mey.	Koru itırı	2	2,60	2,78	0,06
21	<i>Geraniaceae</i>	* <i>Geranium ponticum</i> (P.H.Davis & J.Roberts) Aedo	Yayla itırı	2	0,60	0,71	0,01
22	<i>Lamiaceae</i>	<i>Ajuga orientalis</i> L.	Dağmayası	0	1,20	1,31	0,00
23	<i>Lamiaceae</i>	<i>Stachys cretica</i> L. subsp. <i>cretica</i>	Delıçay	2	0,20	0,24	0,00
24	<i>Lamiaceae</i>	<i>Stachys macrantha</i> (K.Koch) Stearn	Koca soğulcan	2	7,00	8,70	0,17
25	<i>Lamiaceae</i>	<i>Thymus longicaulis</i> C.presl subsp. <i>longicaulis</i>	Aşkekiğı	3	0,40	0,71	0,02
26	<i>Juncaceae</i>	<i>Luzula stenophylla</i> Steud.	Acemluzulu	0	0,40	0,45	0,00
27	<i>Orobanchaceae</i>	<i>Pedicularis condensata</i> M.Bieb.	Kırk bitotu	-1	0,60	1,07	-0,01
28	<i>Orobanchaceae</i>	<i>Pedicularis wilhelmsiana</i> Fisch. ex M.Bieb.	Telekli bitotu	-1	0,60	1,07	-0,01
29	<i>Plantaginaceae</i>	<i>Veronica gentianoides</i> Vahl subsp. <i>gentianoides</i>	Kandil çiçeğı	1	0,80	0,85	0,01
30	<i>Polygonaceae</i>	<i>Polygonum bistorta</i> L.	Çimen evelceğı	1	4,40	5,51	0,06
31	<i>Polygonaceae</i>	<i>Rumex alpinus</i> L.	Şortah	0	0,40	0,71	0,00
32	<i>Primulaceae</i>	<i>Primula auriculata</i> Lam., Tabl.	Felçotu	3	0,60	1,07	0,03
33	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Anemone narcissiflora</i> L. subsp. <i>narcissiflora</i>	Mayıs çiçeğı	0	1,00	1,15	0,00
34	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculus brachylobus</i> Boiss. & Hohen.	Şellebung	1	4,00	4,40	0,04
35	<i>Rosaceae</i>	<i>Alchemilla retinervis</i> Buser	Damarlıkeltat	0	3,80	5,18	0,00
36	<i>Rosaceae</i>	<i>Potentilla recta</i> L.	Su parmakotu	1	1,60	2,44	0,02
37	<i>Rosaceae</i>	<i>Sibbaldia parviflora</i> Willd. var. <i>parviflora</i>	Fındıkotu	1	0,80	0,80	0,01
38	<i>Rubiaceae</i>	<i>Galium album</i> Mill. subsp. <i>prusense</i> K.Koch) Ehrend. & Krendl	Bursa iplikçiğı	2	0,60	0,67	0,01
			<b>Toplam</b>		<b>47,20</b>	<b>58,82</b>	<b>0,62</b>
			<b>GENEL TOPLAM</b>		<b>83,40</b>	<b>100,00</b>	<b>2,65</b>

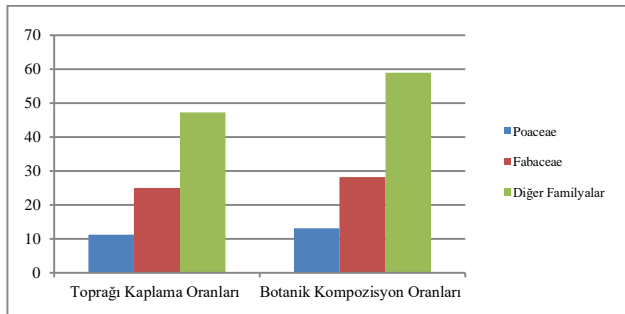
\*: Endemik, DS: Değer Sayısı, TKO: Toprağı Kaplama Oranı, BK: Botanik Kompozisyon, MD: Mera Derecesi.

Tablo 2'ye bakıldığında araştırma alanında yer alan mera vejetasyonunun toplam toprağı kaplama oranı %

83.40, *Poaceae*, *Fabaceae* ve diğer familyaların oranı ise sırasıyla % 11.20; 25.00; 47.20 olarak belirlenmiştir.

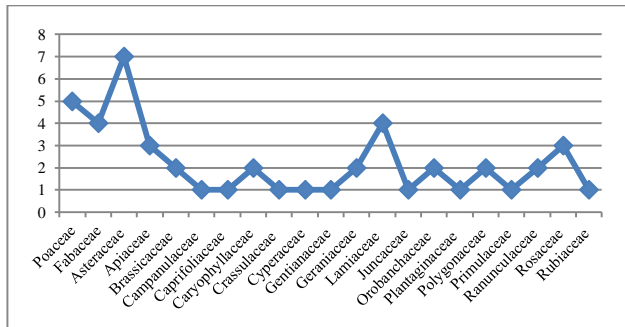
Toprağı kaplama alanına göre *Poaceae*, *Fabaceae* ve diğer familyaların botanik kompozisyonları ise sırasıyla % 13.07; 28.11; 58.82 olarak tespit edilmiştir. Mera kalite derecesi 2.65 değeri ile meranın durumu “Zayıf” olarak belirlenmiştir. Çalışılan meranın botanik kompozisyonunda bulunan bitkilerden *Poaceae*’den *Poa pratensis* (% 4.29), *Fabaceae*’den *Trifolium canescens* (% 10.93) ve diğer familyalardan *Stachys macrantha* (% 8.70) taksonları ilk sırayı oluşturmaktadır. Meranın zayıf olmasında, botanik kompozisyonunda hayvanların tercih ettiği buğdaygil ve baklagil türlerinin oranlarının otlama baskısı ile az olması ve hayvanların tercih etmediği diğer familya türlerinin fazla olması etkili olmuş olabilir.

Çalışılan mera vejetasyonunda *Poaceae*’de 5, *Fabaceae*’den 4 ve diğer familyalardan 38 tane olmak üzere, toplam 43 cins de 47 takson tespit edilmiştir. Diğer familyalardan *Asteraceae* (7), *Apiaceae* (3), *Brassicaceae* (2), *Campanulaceae* (1), *Caprifoliaceae* (1), *Caryophyllaceae* (2), *Crassulaceae* (1), *Cyperaceae* (1), *Gentianaceae* (1), *Geraniaceae* (2), *Lamiaceae* (4), *Juncaceae* (1), *Orobanchaceae* (2), *Plantaginaceae* (1), *Polygonaceae* (2), *Primulaceae* (1), *Ranunculaceae* (2), *Rosaceae* (3), *Rubiaceae* (1) takson tespit edilmiştir (Şekil 2). Ayrıca merada tespit edilen taksonlardan *Helictotrichon argaeum*, *Anthemis cretica* subsp. *argaea*, *Psephellus appendicigerus* ve *Geranium ponticum* taksonları endemiktir.



Şekil 2: Familyaların Toprağı Kaplama ve Botanik Kompozisyon Oranları (%).

Figure 2: Canopy Covering and Botanical Composition Ratios of Families (%).



Şekil 3: Familyalara Göre Takson Sayıları.

Figure 3: Taxon Numbers According to Families.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Araştırmadan elde edilen sonuçlar ile diğer araştırmacıların (Babalık & Sarıkaya, 2015; Çaçan & Başbağ, 2016; Babalık & Ercan, 2018; Çınar vd., 2019; Bakoğlu vd., 2019; Çatal vd., 2019; Baykal vd., 2020) bulguları arasında benzerlik ve farklılıklar bulunmaktadır. Farklılıkların ortaya çıkmasına meraların iklim, toprak ve topografik yapılarının farklı olmasından ve farklı vejetasyon ölçüm metotları ve uygulamalarından kaynaklanabileceği belirlenmiştir.

Sonuç olarak, yapılan çalışmada 5 *Poaceae*, 4 *Fabaceae* ve 38 tane de diğer familyalardan olmak üzere, 21 familya 43 cinse ait toplam 47 takson tespit edilmiştir. Mera bitkilerinin toprağı kaplama alanı % 83.40, toprağı kaplama alanına göre botanik kompozisyonları *Poaceae* % 13.07, *Fabaceae* % 28.11 ve diğer familyalar % 58.82 oranında olduğu belirlenmiştir. Meranın botanik kompozisyonunda bulunan bitkilerden *Poaceae*’den (*Poa pratensis*) (% 4.29), *Fabaceae*’den (*Trifolium canescens*) (% 10.93) ve diğer familyalardan (*Stachys macrantha*) (% 8.70) taksonları ilk sırayı oluşturmaktadır. 2.65 mera kalite derecesi ile meranın durumu “Zayıf” olarak belirlenmiştir. Zayıf olan merayı en azından orta seviyeye getirmek için meraya uygun ıslah yöntemini belirlemeye yönelik çalışmalar yapılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Açıkgöz, E. (2001). *Yem bitkileri (3. Baskı)*. Uludağ Üniversitesi Güçlendirme Vakfı, Yayın No:182. Vipaş A.Ş.:yayın No:58, s.584, Bursa.
- Anonim. (2008). *Türkiye’nin çayır ve mera bitkileri*. Tarım ve Köyüşleri Bakanlığı Tarımsal Üretim ve Geliştirme Genel Müdürlüğü Yayınları, 468s.
- Anonim. (2018). Rize Mera Alanı. <https://rize.tarim.gov.tr/Menu/13/Ekonomi> (24.09.2019).
- Anonim. (2019). T.C. Başbakanlık Devlet Meteoroloji İşleri Genel Müdürlüğü, Rize İl Müdürlüğü Kayıtları.
- Babalık, A.A. & Ercan, A. (2018). Eskişehir ili Karaören köyü merasının vejetasyon özelliklerinin belirlenmesi. *Türkiye Ormanlık Dergisi*, 19(3), 246-251.
- Babalık, A.A. & Sarıkaya, H. (2015). Isparta ili Zengi merasında ot verimi ve botanik kompozisyonun tespiti üzerine bir araştırma. *Türkiye Ormanlık Dergisi*, 16(2), 96-101.
- Bakoğlu, A. (1999). *Otlatılan ve korunan iki farklı mera kesiminin bazı toprak ve bitki örtüsü özelliklerinin karşılaştırılması*. Doktora Tezi. Atatürk Üniv. Fen Bil. Ens. Erzurum, Türkiye, 128s.

- Bakoğlu, A., Baykal, H. & Çatal, M.İ. (2019).** Handüzü yaylasının botanik kompozisyonu üzerine bir çalışma, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, **7**, 1339-1343.
- Baykal, H. & Atamov, V. (2016).** Floristic diversity in Bashemsin Valley of Kackar Mountains National Park of Rize, Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, **48**(5), 1871-1876.
- Baykal, H. & Atamov, V. (2018).** Isırlık Doğa Parkı ve çevresinin floras. *Ot Sistematiği Botanik*, **25**(2), 151-170.
- Baykal, H., Atamov, V. & Yüksek, T. (2018).** Flora of Tunca Valley Natural Park and environs (Ardeşen-Rize/Turkey)". *Biological Diversity and Conservation*, **11**, 6-24.
- Baykal, H. (2019).** Flora of Akyamaç Waterfall Natural Park and environs (Rize/Turkey). *Biological Diversity and Conservation*, **12**, 128-137.
- Baykal, H., Çatal, M.İ. & Bakoğlu, A. (2020).** Çamlıhemşin-Palovit yaylasının botanik kompozisyonu üzerine bir araştırma. *Turkish Journal of Forestry*, **21**(2), 136-140.
- Çaçan, E. & Başbağ, M. (2016).** Bingöl ili merkez ilçesi Yelesen-Dikme köylerinin farklı yöney ve yükseltilerde yer alan mera kesimlerinde botanik kompozisyon ve ot veriminin değişimi. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, **53**(1), 1-9.
- Çatal, M.İ., Baykal, H. & Bakoğlu, A. (2019).** Ovit yaylasının (İkizdere-RİZE) botanik kompozisyonunun belirlenmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**, 435-440. DOI: [10.35229/jaes.600149](https://doi.org/10.35229/jaes.600149)
- Çınar, S., Hatipoğlu, R., Avcı, M., Yücel, C. & İnal, İ. (2019).** Adana ili Tufanbeyli ilçesi meralarının vejetasyon yapısı üzerine bir araştırma. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, **22**(1), 143-152. DOI: [10.18016/ksutarimdogu.vi.448421](https://doi.org/10.18016/ksutarimdogu.vi.448421)
- Davis, P.H. (1965-1985).** *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 1-9, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- Davis, P.H., Mill, R.R. & Tan, K. (1988).** *Flora of Turkey and The East Aegean Islands*, Vol. 10, Edinburgh University Press, Edinburgh.
- De Vries, D.M., De Boer, T.A. & Dirver, J.P.P. (1951).** Evaluation of grassland by botanical research in the Netherlands. In Proc. *United National Sci. Conf. on the Conservation and Utilization of Resources*, **6**, 522-524.
- Erik, S., Guner, A., Yıldırım, Ş. & Sümbül, H. (1996).** *Tohumlu bitkiler sistematiği laboratuvar kılavuzu*. Literature Yayınları, Ankara.
- Gökkuş, A. (1991).** *Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri çayır mer'a yem bitkileri ve hayvancılığı geliştirme projesi eğitim semineri 20-22 Şubat 1991*. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü Tarım İl Müdürlüğü.
- Gökkuş, A., Koç, A. & Çomaklı, B. (1993).** *Çayır-mera uygulama kılavuzu*. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları No:142, A.Ü. Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M. & Babaç, M. T. (ed.). (2012).** *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. & Başer, K.H.C. (2000).** *Flora of Turkey*. Vol. 11. Edinburgh: University Press.
- Tosun, F. (1968).** *Doğu Anadolu kıraç meralarının ıslahında uygulanabilecek teknik metodların tesbiti üzerine bir araştırma*. Ziraat Araştırma Enstitüsü Araştırma Bülteni No: 29, Ankara.
- TÜİK. (2019).** Bitkisel Üretim İstatistikleri. <http://www.tuik.gov.tr> (30 Ekim 2019).



## Determination of the Effect of Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) by Some Antioxidant Enzyme Activities

Osman SERDAR

Munzer University, Faculty of Fisheries Tunceli, Turkey

Received: 3 October 2020

Accepted: 16 February 2021

Published: 31 March 2021

How to cite: Serdar, O. (2021). Determination of the Effect of Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*) by Some Antioxidant Enzyme Activities. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 77-83.

Atf yapmak için: Serdar, O. (2021). Cyfluthrin Pestisitinin Zebra Midyesi (*Dreissena polymorpha*) Üzerindeki Etkisinin Bazı Antioksidan Enzim Aktiviteleriyle Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 77-83.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0003-1744-8883>

\*Corresponding author's:  
Osman SERDAR  
Munzer University, Faculty of Fisheries  
Tunceli, Turkey.  
✉: [oserdar@munzur.edu.tr](mailto:oserdar@munzur.edu.tr)

**Abstract:** In this study, some biochemical responses of Cyfluthrin (CFT), a commercial insecticide in *Dreissena polymorpha* were investigated. The 96 hour LC50 value of CFT on *D. polymorpha* was calculated as  $553.22 \pm 27.3 \mu\text{g/L}$ . *D. polymorpha* was exposed to sublethal concentrations (1/20, 1/10 and 1/5 of LC50 value) of CFT for 24 and 96 hours. The enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) were determined in *D. polymorpha* individuals. In *D. polymorpha* exposed to CFT, SOD activity increased compared to control. It was determined that CAT and GPx activities were inhibited compared to the control.

As a result, it was determined that there was an increase in the oxidative damage of *D. polymorpha* individuals with CFT exposure.

**Keywords:** Catalase, cyfluthrin, *Dreissena polymorpha*, glutathione peroxidase, superoxide dismutase.

## Cyfluthrin Pestisitinin Zebra Midyesi (*Dreissena polymorpha*) Üzerindeki Etkisinin Bazı Antioksidan Enzim Aktiviteleriyle Belirlenmesi

**Öz:** Yapılan bu çalışmada, *Dreissena polymorpha*'da ticari insektisit olan Cyfluthrin (CFT)'nin bazı biyokimyasal yanıtları araştırılmıştır. CFT'nin *D. polymorpha* üzerindeki 96 saatlik LC50 değeri  $553,22 \pm 27,3 \mu\text{g/L}$  olarak hesaplanmıştır. *D. polymorpha*, CFT'nin subletal konsantrasyonlar (LC50 değerinin 1/20, 1/10 ve 1/5)'ına 24 ve 96 saat süre ile maruz bırakılmıştır. *D. polymorpha* bireylerinde superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve Glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. CFT'ye maruz bırakılan *D. polymorpha*'da, SOD aktivitesi kontrole kıyasla artmıştır. CAT ve GPx aktivitelerinin kontrole kıyasla inhibe olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak, CFT'ye maruz kalan *D. polymorpha* bireylerinin oksidatif hasarında artış olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Cyfluthrin, *Dreissena polymorpha*, glutatyon peroksidaz, katalaz, superoksit dismutaz.

## INTRODUCTION

Aquatic organisms constitute a large part of the living potential in the ecosystem. Aquatic environment is the final stop of environmental pollution and is the environment most affected by pollution compared to other

environments. In case of direct and indirect exposure of aquatic organisms to any pollutant, it is important to know the possible toxic effects of the pollutants, the amount of accumulation on the organism, the biochemical and histopathological damage and the trophic transfer

interaction with the food chain, directly and indirectly, affect the organisms in the ecosystem.

In order to determine the toxicity level of any substance on living things, acute toxicity tests are required. The most common acute toxicity used is the lethal dose/concentration (lethality) test. The purpose of this test is to determine the toxic symptoms that may arise on a living being exposed to a chemical, the degree of affection of certain organs such as the brain, kidney, liver, or the lethal dose/concentration level. Lethal dose/concentration value is also considered as an indicator of how safe that substance can be used (Saygi, 2003).

The production of reactive oxygen species (ROS) stimulated by pollutants and the resulting oxidative stress are stated as toxicity mechanisms in aquatic organisms exposed to pollution (Livingstone, 2003). Oxidative stress occurs when an intolerable amount of free radicals and non-radical ROS exceed the antioxidant defense capacity of the cell and subsequently, ROS causes damage to cellular metabolism (Halliwell & Gutteridge, 2015; Nishida, 2011). Xenobiotics are potential factors that can create oxidative stress in aquatic organisms through the activation of ROS mechanisms (Lushchak, 2011; Slaninova et al., 2009; Valavanidis et al., 2006). In organisms, enzymatic (catalase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, etc.) and non-enzymatic antioxidant mechanisms (ascorbic acid, tocopherols, glutathione, etc.) are responsible for the protection of cellular components against oxidative damage (Uluturhan et al., 2019). Exposure to increased ROS production can also lead to the induction of certain antioxidant enzymes by interacting with antioxidant-responsive gene elements and increased transcription (Livingstone, 2003). Lipid peroxidation (LPO) causes an increase in ion permeability and loss of membrane fluidity by disrupting the membrane structure. LPO is one of the most researched topics regarding ROS-related damage. Phospholipids found in membranes are the most abundant targets that ROS can affect. Antioxidant enzyme activities, glutathione redox states and LPO product levels are the most frequently used biomarkers in toxicological evaluations (Oruç et al., 2004).

Acetylcholine (ACh) is a major neurotransmitter in the somatic and autonomic nervous system. ACh is involved in the transmission of nerve impulses by neuromuscular chemical pathways and activates muscles. This neurotransmitter is broken down by the acetylcholinesterase (AChE) enzyme. AChE, which is frequently used as a biomarker in biomonitor studies, is an enzyme that inactivates acetylcholine in the synaptic cleft (Pohanka, 2011). Acetylcholinesterase functions as a regulatory enzyme of cholinergic neurotransmission by hydrolyzing acetylcholine to choline and acetate (Müller et al., 2019).

Choosing the appropriate test organism as well as the appropriate test type to obtain up-to-date and meaningful results in toxicological tests is an important factor affecting the research (Rand, 1995).

Since mussels are fed by filtering, they absorb dissolved and particulate pollutants. Due to their non-selective nutrition in their nutritional intake (Wesch et al., 2016), mussels that accumulate pollutants in high concentrations are among the leading biological indicators reflecting pollution since they keep them in their bodies for a long time (Bilgin & Uluturhan, 2015; Viarengo et al., 2007).

Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) is one of the two freshwater shelled species distributed in Eastern Europe, North America and Western Asia (Kinzelbach, 1992). The invasive behavior of the zebra mussel is seen as a disadvantage in its widespread use. This distinct disadvantage may represent one of the important reasons to ensure the protection of native species by sampling *D. polymorpha*, which is both invasive and widely used in biomonitoring and toxic effect assessment studies (Binelli et al., 2015). For example, a worldwide decline in the population of Unionid species (*Unio* spp., *Anodonta* spp.), etc. has been reported for several years (Binelli et al., 2015; Bogan, 1993). Another reason is that Zebra mussel (*D. polymorpha* Pallas, 1771) was chosen as living material in the study because it is not selective in food intake.

Substances that pollute water are of great importance because they cause toxic effects in aquatic creatures and threaten the health of all organisms in the ecosystem by accumulating in the food chain (Tokatlı et al., 2016; Wildi et al., 2004).

Cyfluthrin (CFT) is a synthetic pyrethroid pesticide that can contaminate water ecosystems and cause pollution in aquatic environments (Benli, 2005). Widely used, CFT causes toxicity to susceptible aquatic organisms by acting on river surfaces with which it is associated. Like other insecticides, it also has toxic effects on non-target organisms (Güvenç & Aksoy, 2010). CFT, which has a wide range of uses, contaminates water, which is the final stop of pollution, in various ways. Thus, it causes toxicity for aquatic organisms (Dinçel et al., 2009).

In this study, the biochemical response of Zebra mussel (*D. polymorpha*) against CFT pesticide with some biomarkers was investigated, since it is suitable as a scientific study material with its suitability to these features, economic value and accessibility.

## MATERIAL AND METHOD

**Test organism:** *D. polymorpha* samples used in the study were obtained from Keban Dam Lake. *D. polymorpha* was collected by hand and brought as alive to

Munzur University Faculty of Fisheries Aquatic Toxicology Research Laboratory in plastic containers with air reinforcement.

**Adaptation of the test organism to laboratory conditions:** *D. polymorpha* samples brought as alive to the laboratory were placed in prepared aquariums. Photoperiod was applied in laboratory lighting with 14 hours light and 10 hours dark. The ambient temperature was kept constant by adjusting to 18 ° C during both the adaptation and test stages, thanks to the thermostat air conditioner. Cultured phytoplanktons were used to feed *D. polymorpha*.

In order to meet the oxygen need in stock aquariums, the air motor and external filter are used in the aquarium.

**Determination of LC50 value and experimental design:** The LC50 value in test organisms was determined by a static 96-hour acute toxicity test. For this, 5 different CFT concentration groups (0, 2, 10, 50, 250, and 1250 µg /L CFT) were formed, one of which was the control group. Dead individuals were noted at these concentrations due to CFT exposure, and the LC50 value was calculated using probit analysis with the data obtained. Ten individual organisms were used for each bioassay group, including recurrences. About 400 organism individuals were used in the study together with the LC50 experiments. The following 4 groups were formed from the calculated LC50 value (3 sublethal groups and control group).

Control group, 0 mg/L CFT, (Control24 24th hour control group, Control96 96th hour control group),

Group A, 28 µg/L CFT approximately 1/20 of the LC50 value, (A\_24; 24th hour, A\_96; 96th hour),

Group B, 56 µg/L CFT approximately 1/10 of the LC50 value, (B\_24; 24th hour, B\_96; 96th hour),

Group C, 112 µg/L CFT approximately 1/5 of the LC50 value (C\_24; 24th hour, C\_96; 96th hour).

Organisms were exposed to CFT concentrations determined in the formed groups and stored in a -86 °C freezer to determine their biochemical responses at 24 and 96 hours. All experimental studies (range determination, LC50 value, and biochemical responses) were performed in triplicate.

**Dissection procedures and preparation of supernatants:** The test organism individuals were opened with a scalpel and the dissection process was performed. 0.5 g of the organism was weighed and homogenized using a homogenizer with ice, adding PBS buffer (phosphate buffered salt solution) at a ratio of 1/5 w / v. These homogenized samples were centrifuged in a refrigerated centrifuge at 17000 rpm for 15 minutes and the supernatants obtained were stored in a -86 °C deep freezer until the measurement process was completed.

**Determination of biochemical response:** In this study, SOD, CAT and GPx enzyme activities were

determined for the biochemical response of *D. polymorpha* mussel individuals exposed to CFT pesticide.

The SOD (Catalog No 706002), CAT (Catalog No 707002) and GPx (Catalog No 703102) kits used in the study were purchased from CAYMAN.

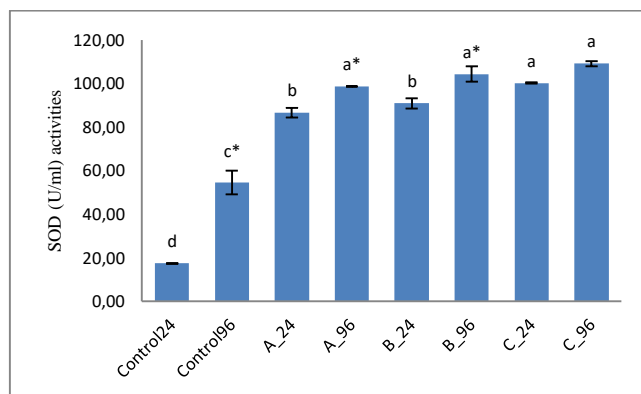
**Statistical analysis:** The statistical difference between application concentrations was determined according to Duncan's multiple comparison tests in the same application period, and the difference between the application times in the same application group was determined by Independent T-test.

## RESULTS

**Metric-meristic measurements:** Metric-meristic measurements of mussels before biochemical analysis (length data (27.43 ± 1.51 mm length, 10.62 ± 1.13 mm height, 11.09 ± 1.24 mm width) with 0.001 mm precision digital caliper and weight data (1.53 ± 0.33 g) with 0.001 g precision. It was recorded by weighing with the scales.

**LC50 Value:** In order to determine the lethal concentration of CFT, first range determination tests were carried out. After the study, 6 different CFT concentration groups (0, 2, 10, 50, 250, 1250 µg/L) were formed, one of which was the control group, to determine the lethal concentrations of CFT in *D. polymorpha*. With these concentrations, the LC50 value was calculated as 553.22 ± 27.3 µg/L by probit analysis.

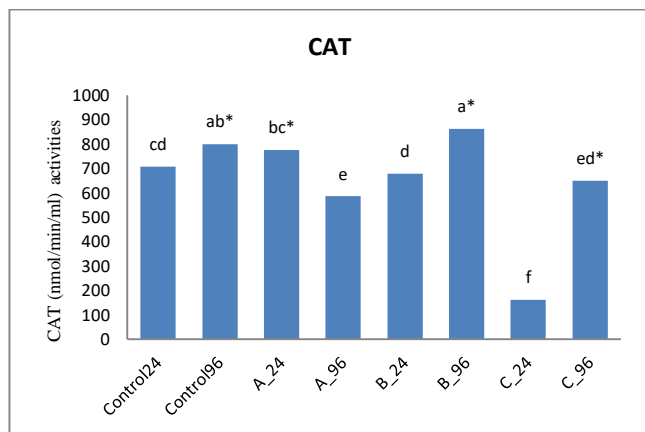
**SOD Activity:** The time-dependent changes of SOD activities in the test organism in which different concentrations of CFT were applied with the control group are given in Figure 1. It was found that the SOD activities of organisms exposed to CFT increased in all groups compared to the control group (p <0.05). It was determined that SOD activities increased (p <0.05) during the exposure time (A and B group) in the same concentration groups (Figure 1).



**Figure 1.** Changes in SOD activities in *D. morpha* exposed to different sublethal concentrations of CFT.

Asterisk (\*) shows statistical differences according to the two-tailed independent T test between different exposure time (24 and 96 h) in the same groups; \*p < 0.05. Different letters on bar (a, b, c, d) show statistical differences of Duncan's multiple range test among all application groups in the same exposure time; abc p < 0.05.

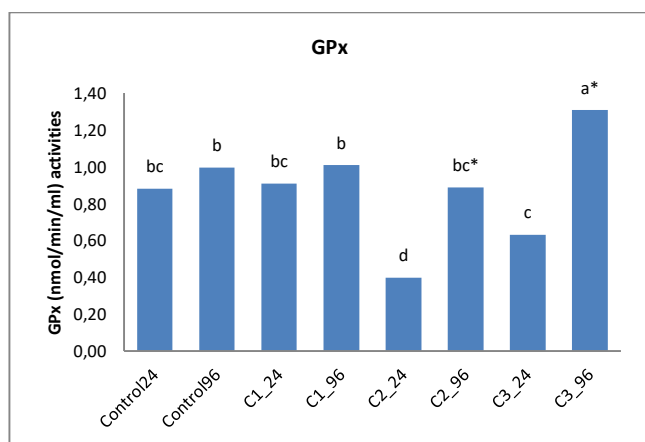
**CAT Activity:** Time-dependent changes of CAT activities in the test organism where different concentrations of CFT were applied with the control group are given in Figure 2. It was determined that CAT activities decreased in organisms exposed to CFT compared to the control group ( $p < 0.05$ ). It was determined that CAT activities increased ( $p < 0.05$ ) during the exposure time (B and C groups) in the same concentration groups (Figure 2).



**Figure 2.** Changes in CAT activities in *D. morpha* exposed to different sublethal concentrations of CFT.

Asterisk (\*) shows statistical differences according to the two-tailed independent T test between different exposure time (24 and 96 h) in the same groups;  $*p < 0.05$ . Different letters on bar (a, b, c, d, e, f) show statistical differences of Duncan's multiple range test among all application groups in the same exposure time;  $abc < 0.05$ .

**GPx Activity:** The time-dependent changes of GPx activities in the test organism where different concentrations of CFT were applied with the control group are given in Figure 3. The changes in GPx activities in organisms exposed to CFT decrease compared to the control group (Figure 3) were determined ( $p < 0.05$ ). It was determined that GPx activities increased ( $p < 0.05$ ) during the exposure time in the same concentration groups (B and C group) (Figure 3).



**Figure 3.** Changes in GPx activities in *D. morpha* exposed to different sublethal concentrations of CFT

Asterisk (\*) shows statistical differences according to the two-tailed independent T test between different exposure time (24 and 96 h) in the same groups;  $*p < 0.05$ . Different letters on bar (a, b, c, d) show statistical differences of Duncan's multiple range test among all application groups in the same exposure time;  $abc < 0.05$ .

## DISCUSSION

The main purpose of toxicity tests on aquatic organisms is to determine at what concentration a substance is harmful to the organism. Bioassays today are the physiology, pathology, nutrition, behavior patterns of organisms. It is used as a tool to enlighten many issues (Çetinkaya, 2005).

LC50 value is very important in terms of evaluating the acute toxic effects of chemical substances due to short-term applications (Saygı, 2003). In this study, 96 hour LC50 value of CFT was determined by static method to determine the sublethal concentration to which the test organism will be exposed. It has been determined that CFT values in acute toxicity on *D. polymorpha* are very low and if the wrong and unconscious use of pesticides continues to increase, it can harm non-target organisms. Behavioral changes that occur in toxicity tests can provide predictions of endpoints for non-fatal toxicity and serve as a tool for environmental risk assessment and analysis of toxicological impact. Therefore, measuring the behavior of an organism after exposure to contaminants provides a better prediction of the potential environmental consequences of toxic contamination rather than simply measuring lethal effects (Khalil et al., 2013).

SOD, a metalloenzyme group, is the primary defense against the toxic effects of superoxide radicals in aerobic organisms and catalyzes the conversion of superoxide radicals to  $H_2O_2$  and  $O_2$ , which play an important role in the antioxidant system (Kappus, 1985; Kohen & Nyska, 2002). It is not a general rule that an increase in xenobiotic concentrations induces antioxidant activity (Cheung et al., 2001). In some cases,  $O_2^-$  alone or after conversion to  $H_2O_2$  causes strong oxidation of the cysteine in the enzyme and reduces SOD activity (Dimitrova et al., 1994; Durmaz et al., 2006). In the presence of xenobiotics, the initial decreased response in the antioxidant system may be followed by an induction. Therefore, the presence of an inducible antioxidant system may reflect an adaptation of the organism (Doyotte et al., 1997; Oruç & Usta, 2007). The response of the antioxidant system to oxidative stress in various tissues differs from one species to another due to the differences in the antioxidant potential of these tissues (Ahmad et al., 2000; Oruç & Usta, 2007). In this study, an increase in SOD activity was determined in *D. polymorpha* after CFT exposure. Similarly, studies have reported increased SOD activity in some aquatic organisms exposed to various pollutants (Ergüven et al., 2020; Serdar et al., 2018; Tatar et al., 2018; Yildirim et al., 2019).

CAT is a very common enzyme found in almost all living organisms that use oxygen. It plays a role in the formation of water and oxygen by catalyzing the



decomposition of hydrogen peroxide (Chelikani et al., 2004). CAT activity in contaminated environments may increase or decrease depending on the substance (Sobjak et al., 2017). In this study, CAT enzyme activity is inhibited by CFT exposure by organisms under stress compared to control. Similar to the current study, reductions in CAT activity have been reported in aquatic organisms exposed to various contaminants (Crestani et al., 2007; Hasspieler et al., 1994; Sayeed et al., 2003; Serdar, 2019; Thomas & Murthy, 1976; Yildirim et al., 2018; Zhang et al., 2004). These unexpected results in the literature on the activity of this enzyme, species, habitats, sex, etc. this can be explained by the fact that the differences can lead to antioxidant changes. (Gluszcak et al., 2007).

Considered as a protective enzyme against lipid peroxidation at the expense of GSH, GPx catalyzes the reduction of hydrogen peroxide and lipid peroxides (Moreno et al. 2005). Monteiro et al. (2006) showed that the activity of this enzyme is reduced due to damage caused by negative feedback or oxidative modification caused by an excess of substrate. Inhibition of GPx activity may reflect the failure of the antioxidant system in contact with pesticides (Ballesteros et al., 2009) or may be related to the direct effect of superoxide radicals or pesticides on enzyme synthesis (Bainy et al., 1993). The GPx activity in *D. polymorpha* exposed to CFT was significantly lower than that obtained for control organisms in this study. This decrease may indicate that the antioxidant capacity is exceeded by the amount of hydroperoxide product synthesized through lipid peroxidation (Remacle et al., 1992). In this regard, the GPx inhibition observed in this study may reflect a possible antioxidant defense failure responsible for the observed increase in MDA levels. Similar to the current study, many studies reported that GPx activity was triggered by pollutants (Almeida et al., 2002; Fatima et al., 2000; Oliveira et al., 2012; Sayeed et al., 2003; Serdar, 2019; Tatar et al., 2018; Zhang et al., 2004).

## CONCLUSION

According to the results of the data obtained from the study; the toxic effect of CFT pesticide on *D. polymorpha* has been determined. It was concluded that SOD, CAT and GPx are useful biomarkers in the investigation of the toxic effects of CFT on the test organism *D. polymorpha*, which is fed by filtering water, has no selective nutrition and has limited mobility. The results obtained depending on the concentration and time at the levels of these biomarkers show that the response of the test organism to the toxic substance changes with the concentration of the toxic substance and the application time.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Munzur University under project number PPMUB019-17.

## REFERENCES

- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H.S., Jain, S.K., Athar, M. & Raisuddin, S. (2000).** Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1523**(1), 37-48.
- Almeida, J.A., Diniz, Y.S., Marques, S.F.G., Faine, L.A., Ribas, B.O., Burneiko, R.C. & Novelli, E.L.B. (2002).** The use of the oxidative stress responses as biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to in vivo cadmium contamination. *Environment International*, **27**(8), 673-679.
- Bainy, A.C.D., Arisi, A.C.M., Azzalis, L.A., Simizu, K., Barros, S.B.M., Videla, L.A. & Junqueira, V.B.C. (1993).** Differential effects of short-term lindane administration on parameters related to oxidative stress in rat liver and erythrocytes. *Journal of Biochemical Toxicology*, **8**(4), 187-194.
- Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A. & Bistoni, M.A. (2009).** Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**(1), 199-205.
- Benli, A.C.K. (2005).** Investigation of Acute Toxicity of Cyfluthrin on Tilapia Fry *Oreochromis niloticus* L. 1758). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **20**: 279-282.
- Bilgin, M. & Uluturhan, E.S. (2015).** Homa Dalyan'ında (İzmir Körfezi) dağılım gösteren *Mytilus galloprovincialis* ve *Tapes decussatus* (Bivalvia) türlerinde ağır metal birikimlerinin incelenmesi. *Su Ürünleri Dergisi*, **32**(1), 1-8.
- Binelli, A., Della Torre, C., Magni, S. & Parolini, M. (2015).** Does zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review. *Environmental pollution*, **196**, 386-403.
- Bogan, A.E. (1993).** Freshwater bivalve extinctions (Mollusca: Unionoida): a search for causes. *American Zoologist*, **33**(6), 599-609.
- Chelikani, P., Fita, I. & Loewen, P.C. (2004).** Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, **61**(2), 192-208.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. & Lam, P.K.S. (2001).** Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicology*, **52**(3-4), 189-203.

- Crestani, M., Menezes, C., Glusczak, L., dos Santos Miron, D., Spanevello, R., Silveira, A. & Loro, V.L. (2007).** Effect of clomazone herbicide on biochemical and histological aspects of silver catfish (*Rhamdia quelen*) and recovery pattern. *Chemosphere*, **67**(11), 2305-2311
- Çetinkaya, O. (2005).** *Akuatik toksikoloji: Balık biyodeneyleri. Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri*. Editor: M. Karataş. Nobel Kitap Dağıtım A.Ş., Nobel Yayın No:4, 2. Baskı, Bölüm: 7, 169-218.
- Dinçel, A.S., Benli, A.Ç.K., Selvi, M., Sarıkaya, R., Şahin, D., Özkul, A. & Erkoç, F. (2009).** Sublethal Cyfluthrin Toxicity to Carp (*Cyprinus carpio* L.) Fingerlings: Biochemical, Hematological, Histopathological Alterations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**: 1433-1439.
- Dimitrova, M.S., Tishinova, V. & Velcheva, V. (1994).** Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp (*Cyprinus carpio*). *Comp Biochem Physiol C: Pharmacol Toxicol Endocrinol*, **108**(1), 43-46.
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquín, M.C., Babut, M. & Vasseur, P. (1997).** Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve *Unio tumidus*. *Aquatic Toxicology* **39**(2), 93-110.
- Durmaz, H., Sevgiler, Y. & Üner, N. (2006).** Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **84**(3), 215-226.
- Ergüven, O.G., Tatar, Ş., Serdar, O. & Yildirim, N.C. (2020).** Evaluation of the efficiency of chlorpyrifos-ethyl remediation by *Methylobacterium radiotolerans* and *Microbacterium arthrosphaerae* using response of some biochemical biomarkers. *Environmental Science and Pollution Research*. **28**, 2871-2879. DOI: 10.1007/s11356-020-10672-9
- Fatima, M., Ahmad, I., Sayeed, I., Athar, M. & Raisuddin, S. (2000).** Pollutant-induced over-activation of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues. *Aquatic Toxicology*, **49**(4), 243-250.
- Glusczak, L., dos Santos Miron, D., Moraes, B.S., Simões, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M. & Loro, V.L. (2007).** Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **146**(4), 519-524.
- Güvenç, D. & Aksoy, A. (2010).** Samsun Yöresinden Toplanan Çiğ Süt Örneklerinde Bazı Pestisid Kalıntılarının Araştırılması. *Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi*, **16**(2), 281-286.
- Halliwell, B. & Gutteridge, J.M. (2015).** *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA.
- Hasspieler, B.M., Behar, J.V., Carlson, D.B., Watson, D.E. & Di Giulio, R.T. (1994).** Susceptibility of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) and brown bullhead (*Ameiurus nebulosus*) to oxidative stress: a comparative study. *Aquatic Toxicology*, **28**(1-2), 53-64.
- Kappus, H. (1985).** *Lipid peroxidation: mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. Oxidative Stress*. London: Academic Press, 273.
- Khalil, F., Kang, I.J., Undap, S., Tasmin, R., Qiu, X., Shimasaki, Y. & Oshima, Y. (2013).** Alterations in social behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in response to sublethal chlorpyrifos exposure. *Chemosphere*, **92**, 125-130.
- Kohen, R. & Nyska, A. (2002).** Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, **30**(6), 620-650.
- Kinzelbach, R.A.G.N.A.R. (1992).** The main features of the phylogeny and dispersal of the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, pp. 5-17. In: D. Neumann and H. A. Jenner (eds.). *The Zebra Mussel Dreissena polymorpha: Ecology. Biological Monitoring and First Applications in the Water Quality Management*. Gustav Fisher, Stuttgart.
- Livingstone, D.R. (2003).** Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Medecine Veterinaire*, **154**(6), 427-430.
- Lushchak, V.I. (2011).** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*. **101**(1), 13-30.
- Monteiro, D.A., De Almeida, J.A., Rantin, F.T. & Kalinin, A.L. (2006).** Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **143**(2), 141-149.
- Moreno, I., Pichardo, S., Jos, A., Gomez-Amores, L., Mate, A., Vazquez, C.M. & Camean, A.M. (2005).** Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rats exposed to microcystin-LR administered intraperitoneally. *Toxicol*, **45**(4), 395-402.
- Müller S., Wilck N., Kleinewietfeld M., Haase D.N. & Linker, R.A. (2019).** Sodium chloride triggers Th17 mediated autoimmunity. *Journal of Neuroimmunology*, **329**, 9-13.
- Nishida, Y. (2011).** The chemical process of oxidative stress by copper (II) and iron (III) ions in several neurodegenerative disorders. *Monatshfte für Chemie-Chemical Monthly*, **142**(4), 375-384.
- Oliveira, C., Almeida, J., Guilhermino, L., Soares, A.M. & Gravato, C. (2012).** Acute effects of deltamethrin on swimming velocity and biomarkers of the common prawn *Palaemon serratus*. *Aquatic Toxicology*, **124**, 209-216.
- Oruç, E.Ö., Sevgiler, Y. & Uner, N. (2004).** Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed

- to 2,4-D and azinphosmethyl, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **137**(1), 43-51.
- Oruç, E.Ö. & Usta, D. (2007)**. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **23**(1), 48-55.
- Pohanka, M. (2011)**. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc*, **155**(3), 219-229.
- Rand, G.M. (1995)**. *Fundamentals of aquatic toxicology. Effects, environmental fate and risk assessment*. CRC press, (2nd ed.). 1148. DOI: [10.1201/9781003075363](https://doi.org/10.1201/9781003075363)
- Remacle, J., Lambert, D., Raes, M., Pigeolet, E., Michiels, C. & Toussaint, O. (1992)**. Importance of various antioxidant enzymes for cell stability. Confrontation between theoretical and experimental data. *Biochemical Journal* **286**(1), 41-46.
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. & Raisuddin, S. (2003)**. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **56**(2), 295-301.
- Saygi, Ş. (2003)**. Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi. *Gülhane Tıp Dergisi*, **45**(3), 291-298.
- Serdar, O., Yildirim, N. C., Tatar, S., Yildirim, N. & Ogedey, A. (2018)**. Antioxidant biomarkers in *Gammarus pulex* to evaluate the efficiency of electrocoagulation process in landfill leachate treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**(13), 12538-12544.
- Serdar, O. (2019)**. The effect of dimethoate pesticide on some biochemical biomarkers in *Gammarus pulex*. *Environmental Science and Pollution Research*, **26**(21), 21905-21914.
- Sobjak, T.M., Romão, S., do Nascimento, C.Z., dos Santos, A.F.P., Vogel, L. & Guimarães, A.T.B. (2017)**. Assessment of the oxidative and neurotoxic effects of glyphosate pesticide on the larvae of *Rhamdia quelen* fish. *Chemosphere*, **182**, 267-275.
- Slaninova, A., Smutna, M., Modra, H. & Svobodova, Z. (2009)**. Reviews Oxidative stress in fish induced by pesticides. *Neuroendocrinology Letters*, **30**(1), 2-12.
- Tatar, S., Cıkcıkoğlu Yildirim, N., Serdar, O., Yildirim, N. & Ogedey, A. (2018)**. The using of *Gammarus pulex* as a biomonitor in ecological risk assessment of secondary effluent from municipal wastewater treatment plant in Tunceli, Turkey. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, **24**(3), 819-829.
- Thomas, P.C. & Murthy, T.L. (1976)**. Studies on the impact of a few organic pesticides on certain fish enzymes. *Indian Journal of Animal Sciences*, **46**(11), 619-624.
- Tokatlı, C., Emiroğlu, Ö., Arslan, N., Köse, E., Çiçek, A., Dayıoğlu, H. & Başkurt, S. (2016)**. Maden Havzası Balıklarında Vücut Ağırlığı ile Ağır Metal Biyoakümülyasyon İlişkileri: Emet Çayı Havzası, *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi-C Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji*, **4**(2), 57-72.
- Uluturhan, E., Darılmaz, E., Kontas, A., Bilgin, M., Alyuruk, H., Altay, O. & Sevgi, S. (2019)**. Seasonal variations of multi-biomarker responses to metals and pesticides pollution in *M. galloprovincialis* and *T. decussatus* from Homa Lagoon, Eastern Aegean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, **141**, 176-186.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M. & Scoullou, M. (2006)**. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **64**(2), 178-189.
- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E. & Koehler, A. (2007)**. The use of biomarkers in monitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, **146**, 281-300.
- Wesch, C., Bredimus, K., Paulus, M. & Klein, R. (2016)**. Towards the suitable monitoring of ingestion of microplastics by marine biota: A review. *Environmental Pollution*, **218**, 1200-1208.
- Wildi, W., Dominik, J., Loizeau, J.L., Thomas, R.L., Favarger, P., Haller, L., Perroud, A. & Peytremann, C. (2004)**. River, reservoir and lake sediment contamination by heavy metals downstream from urban areas of Switzerland. *Lakes & Reservoirs: Research and Management*, **9**(1), 75-87.
- Yildirim, N.C., Tanyol, M., Yildirim, N., Serdar, O. & Tatar, S. (2018)**. Biochemical responses of *Gammarus pulex* to malachite green solutions decolorized by *Coriolus versicolor* as a biosorbent under batch adsorption conditions optimized with response surface methodology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **156**, 41-47.
- Yildirim, N.C., Tanyol, M., Serdar, O. & Yildirim, N. (2019)**. *Gammarus pulex* as a Model Organism to Assess the Residual Toxicity of Slaughterhouse Wastewater Treated by Electrocoagulation Process. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **103**(3), 447-452.
- Zhang, J., Shen, H., Wang, X., Wu, J. & Xue, Y. (2004)**. Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, **55**(2), 167-174.



## Sexual Morphometric Variation in Pronotum of *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Cerambycidae: Coleoptera)

Aslı DOĞAN SARIKAYA\* Atılay Yağmur OKUTANER  
Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Art and Science, Department of Anthropology, Kırşehir, Turkey.

Received: 23 November 2020

Accepted: 24 February 2021

Published: 31 March 2021

How to cite: Doğan Sarıkaya, A. & Okutaner, A.Y. (2021). Sexual Morphometric Variation in Pronotum of *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Cerambycidae: Coleoptera). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 84-87.

Atf yapmak için: Doğan Sarıkaya, A. & Okutaner, A.Y. (2021). *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Cerambycidae: Coleoptera) Pronotumunda Eşeyssel Morfometrik Varyasyon. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 84-87.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0002-8739-0122>  
ID: <https://orcid.org/0000-0001-6585-1824>

\*Corresponding author's:  
Aslı DOĞAN SARIKAYA  
Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Art  
and Science, Department of Anthropology,  
Kırşehir, Turkey.  
✉: [aslidgn@gmail.com](mailto:aslidgn@gmail.com)

**Abstract:** Understanding sexual dimorphism is very important in studies of insect evolution. Though sexual dimorphism has been the subject of numerous entomological studies there has not been examined sexual dimorphism related to *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 which is endemic to Turkey. In this study, using geometric morphometrics, we analyzed the sexual size and shape dimorphism of pronotum of *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900. Samples of the *Dorcadion anatolicum* were collected from Konya Province, Turkey (Taşkent District, Avşar Town, Feslekan Plateau, 36°51'9" N, 32°30'44" E) on March-April 2018. Sexes of samples were distinguished by the shape and size of the fore tarsus and confirmed by using gonads. A total of 69 specimens (32 females and 37 males) were used in this study. The independent samples t-test showed that the centroid size mean of males is significantly different from that of the females, for pronotum ( $t = 7.129$ ,  $df = 67$ ,  $p = 0.000$ ). Statistically significant differences were found between sexes by discriminant function analysis. Our results of geometric morphometrics revealed that the size and shape of the pronotum can be effectively used in morphological discrimination of the sexes.

**Keywords:** Coleoptera, *Dorcadion anatolicum*, geometric morphometrics, pronotum, sexual dimorphism.

## *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Cerambycidae: Coleoptera) Pronotumunda Eşeyssel Morfometrik Varyasyon

\*Sorumlu yazar:  
Aslı DOĞAN SARIKAYA  
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen  
Edebiyat Fakültesi, Antropoloji Bölümü,  
Kırşehir, Türkiye.  
✉: [aslidgn@gmail.com](mailto:aslidgn@gmail.com)

**Öz:** Eşeyssel dimorfizmi anlamak böcek evrimi çalışmalarında oldukça önemlidir. Eşeyssel dimorfizm çalışmaları birçok entomolojik çalışmaya konu olmasına rağmen, Türkiye'ye endemik bir tür olan *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 ile ilgili bu konuda bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada, geometrik morfometri kullanarak *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 pronotumunun eşeyssel boyut ve şekil dimorfizmi analiz edilmiştir. *Dorcadion anatolicum* örnekleri Mart-Nisan 2018'de Konya ilinden (Taşkent İlçesi, Avşar Kasabası, Feslekan Yaylası, 36°51'9" N, 32°30'44" D) toplanmıştır. Örneklerin eşeyleri ön tarsusun şekli ve boyutuna göre ayırt edildi ve gonadlar kullanılarak doğrulandı. Bu çalışmada toplam 69 örnek (32 dişi ve 37 erkek) kullanılmıştır. Bağımsız örneklem t-testi, erkeklerin centroid size ortalamasının pronotum için dişilerden önemli ölçüde farklı olduğunu gösterdi ( $t = 7.129$ ,  $df = 67$ ,  $p = 0.000$ ). Ayırt edici fonksiyon analiz ile eşeyler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulundu. Geometrik morfometri sonuçlarımız, pronotumun boyutunun ve şeklinin cinsiyetlerin morfolojik ayrımında etkili bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koydu.

**Anahtar kelimeler:** Coleoptera, *Dorcadion anatolicum*, eşeyssel dimorfizm, geometrik morfometri, pronotum.

## INTRODUCTION

Differences between sexes in morphological characters are the fact in many animal taxa; the most visible one is body size (Gannon & Rácz, 2006). Nearly all animal species are sexually size dimorphic (Andersson, 1994; Fairbairn, 2013). The aspect of the sexual difference (whether males or females are larger) is different among groups (Koehl, 1996; Wainwright, 1994). Males generally being larger than females in mammals and birds whereas in insects females tend to be larger than males, which gives them adaptive advantages such as greater fecundity and better parental care (Andersson, 1994; Forrest, 1987; Moller & Zamora-Muñoz, 1997). In the last few years, the revolution of geometric morphometrics has encouraged for researcher the way to analyze the phenotype particularly for morphologically (Eldred et al., 2016; Pretorius & Scholtz, 2001; Sukhodolskaya & Saveliev, 2017; Young, 2015). This technique has been especially helpful to quantify the differences in both size and shape between sexes of a Coleoptera species as display in many studies (Benítez, 2013; Benítez et al., 2013; Lemic et al., 2014; Lemic et al., 2016; Mikac et al., 2016; Nair et al., 2019; Vesovic et al., 2019).

For especially Arthropoda (or insects), Turkey is an important biogeographical area with its geographical location, climatic zones, various topography, and remarkable biodiversity. Turkey is also crucial land for Dorcadionini that has a Palearctic (North Africa and Western Europe to China) chorotype (Danilevsky, 2019). Recently, the Dorcadionini fauna of Turkey was reviewed, and a list of 278 species-group taxa was given by in Özdikmen (2016). *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Coleoptera: Cerambycidae) is endemic to Central and Southeastern Anatolian Regions of Turkey (Özdikmen, 2010).

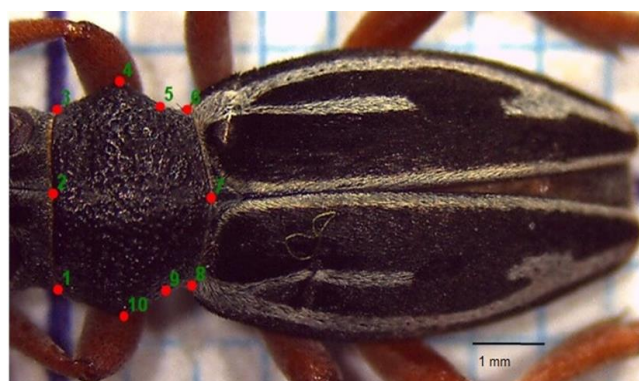
The morphological variations of *Dorcadion* are useful for systematic and evolutionary studies both interspecies and intraspecies (Dascălu & Fusu, 2012; Doğan Sarıkaya et al., 2019). Although there is a noticeable dimorphism in total size between the sexes in species of the *Dorcadion*, there is almost no study on how much this difference reflects on the shape variation. Also, there are no known studies on the description of sexual dimorphism on *Dorcadion anatolicum* using geometric morphometrics. The main purpose of this study was to apply geometric morphometrics to describe sexual dimorphism in the pronotum of *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Coleoptera: Cerambycidae).

## MATERIAL AND METHOD

Samples of the *Dorcadion anatolicum* were collected from Konya Province, Turkey (Taşkent District,

Avşar Town, Feslekan Plateau, 36°51'9" N, 32°30'44" E) on March-April 2018.

Sexes of samples were distinguished by the shape and size of the fore tarsus and confirm by using gonads. A total of 69 specimens (32 females and 37 males) were used in this study. A single image was taken by a camera attached to Leica EZ4HD microscope for each specimen of pronotum. Landmark-based morphometric methods were chosen as they are the most effective technique in learning about the shape information of an organism and eligibility to use powerful statistical methods for testing differences in shape. In this study, 10 landmarks on the pronotum were digitized on photographs using tpsDig 2.17 (Rohlf, 2013). The position of landmarks is given in Figure 1.



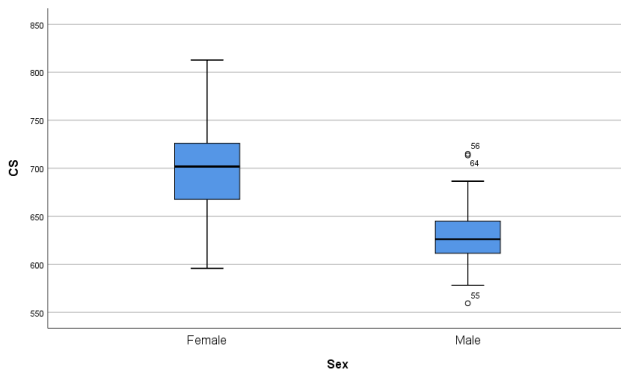
**Figure 1.** Selected landmarks on *Dorcadion anatolicum* male, representing the dorsal side of the pronotum: 1) Anterior margin left edge; 2) middle of anterior margin; 3) anterior margin right edge; 4) right spine apex; 5) right protuberance posterior limit; 6) posterior right edge; 7) middle of posterior margin; 8) posterior margin left edge; 9) left protuberance posterior limit; and 10) left spine apex.

**Statistical Analysis:** To compare pronotum size between sexes, the centroid size (CS) (square root of the sum of the square distances between each landmark and the centroid) (Bookstein, 1986) was computed. The independent samples t-test was performed using the IBM SPSS 25. A generalized procrustes analysis (GPA) has been developed to superimposition of landmark configurations and to eliminate the effects of translation, rotation and scale (Rohlf, 1999). The software package MorphoJ (Klingenberg, 2011) was used to perform the GPA, principle component analysis (PCA) and finally discriminant function analysis (DFA) with leave-one-out cross validation.

## RESULTS AND DISCUSSION

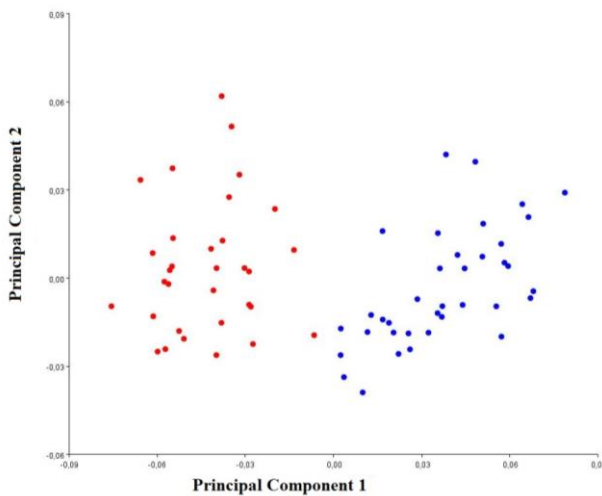
The independent samples t-test showed that the CS mean of males is significantly different from that of the females, for pronotum. ( $t = 7.129$ ,  $df = 67$ ,  $p = 0.000$ ). Figure 2 shows box-plot of CS for pronotum. Further, distributions of females appear to be more variable with

respect to CS than males. Females are larger than males for pronotum



**Figure 2.** Box-plot of centroid size for pronotum for both sexes.

PCA of all individuals explained 66.6% of shape variation within samples by the first two principle components (PC) extracted from the variance-covariance matrix (PC1 explains 54.2% and PC2, 12.4%). A total of up to seven axes were required to cover more than 90% of the shape variation. In the PCA plots, individuals of the two sexes were clearly distinct in two cluster by PC1 (Figure 3).

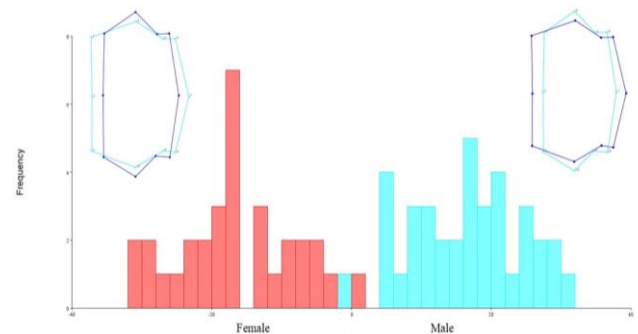


**Figure 3.** Shape differences between sexes, female (red) and male (blue).

DFA was performed using the procrustes coordinates to determine the degree of morphological separation between sexes. The DFA found significant differences between means in procrustes distances ( $P < 0.0001$ ) for the two sexes. Leave-one-out cross validation of DFA conducted on the procrustes coordinates of pronotum evidenced that 96.9% of female group and 97.3% of male group were correctly classified (Figure 4).

Also, the results of DFA show that all the landmarks with the greatest variation indicating that females have a wider and shorter pronotum than males. This is also related to elongated and sharpened from both anterior and posterior parts of the pronotum shape in male

(Figure 4). Although there are many studies significant differences in pronotum shape in Coleoptera (Eldred et al., 2016; Li et al., 2016; Ober & Connolly, 2015; Pizzo et al., 2006), geometric morphometrics was applied here for sexual dimorphism to *Dorcadion* for the first time. Our study found significant sexual dimorphism on pronotum in female and male of *Dorcadion anatolicum*.



**Figure 4.** Leave-one-out cross validation scores of shape variables of pronotum. Wire-frame graphs were shown for female and male respectively at the top of left and right of each figure. The extreme changes of shape in positive and negative direction was shown by the violet lines and mean shape of pronotum was shown by blue lines. The scale for figure is (-20 to 20).

## CONCLUSION

As a result, sexual dimorphism was highly significant in the present study. The fact that the pronotum shows such a high degree of sexual difference emphasizes the importance of intra specific shape variation. Extending this preliminary study with different body parts (head, elytra etc.) and different locality samples will give us to understand of the process in which sexual dimorphism is affected.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by Ahi Evran University, Scientific Research Unit, Kırşehir, Turkey, Grant Project No: FEF.A4.18.

## CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

The authors declare that there are no conflicts of interest.

## REFERENCES

- Andersson, M. (1994). *Sexual selection*. Princeton: Princeton University Press, USA, 247-297p.
- Benítez, H.A., Sanzana, M.J., Jerez, V., Parra, L.E., Hernandez, C.E. & Canales-Aguirre, C.B. (2013). Sexual shape and size dimorphism in carabid beetles of the genus *Ceroglossus*: is

- geometric body size similar between sexes due to sex ratio? *Zoological Science*, **30**, 289-295.
- Benítez, H.A. (2013).** *Sexual dimorphism using geometric morphometric approach*. In: Moriyama H (Ed.) Sexual Dimorphism. IntechOpen, London, 35-50p.
- Bookstein, F.L. (1986).** Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. *Statistical Science*, **2**, 181-222.
- Danilevsky, M.L. (2019).** Catalogue of Palaearctic Cerambycoidea. (<http://www.cerambycidae.net/catalog.pdf>) (11 April 2019).
- Eldred, T., Meloro, C., Scholtz, C., Murphy, D., Fincken, K. & Hayward, M. (2016).** Does size matter for horny beetles? A geometric morphometric analysis of interspecific and intersexual size and shape variation in *Colophon haughtoni* Barnard, 1929, and *C. kawaii* Mizukami, 1997 (Coleoptera: Lucanidae). *Organisms Diversity & Evolution*, **16**(4), 821-833.
- Fairbairn, D.J. (2013).** *Odd couples: Extraordinary differences between the sexes in the animal kingdom*, Princeton University Press. USA, 1-9p.
- Forrest, T.G. (1987).** Insect size tactics and developmental strategies. *Oecologia*, **73**(2), 178-184.
- Gannon, W.L. & Rácz, G.R. (2006).** Character displacement and ecomorphological analysis of two long-eared *Myotis* (*M. auriculus* and *M. evotis*). *Journal of Mammalogy*, **87**(1), 171-179.
- Klingenberg, C.P. (2011).** MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, **11**(2), 353-357.
- Koehl, M. (1996).** When does morphology matter? *Annual Review of Ecology and Systematics*, **27**, 501-542.
- Lemic, D., Benítez, H.A. & Bazok, R. (2014).** Intercontinental effect on sexual shape dimorphism and allometric relationships in the beetle pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology*, **253**(3), 203-206. DOI: [10.1016/j.jcz.2014.01.001](https://doi.org/10.1016/j.jcz.2014.01.001)
- Lemic, D., Benítez, H.A., Püschel, T.A., Gasparic, H.V., Satvar, M. & Bazok, R. (2016).** Ecological morphology of the sugar beet weevil Croatian populations: Evaluating the role of environmental conditions on body shape. *Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology*, **260**, 25-32.
- Li, S., Ricchiardi, E., Bai, E. M. & Yang, X. (2016).** A taxonomy review of *Oreoderus* Burmeister, 1842 from China with a geometric morphometric evaluation (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zookeys*, **13**(552), 67-89.
- Mikac, K.M., Lemic, D., Bazok, R. & Benítez, H.A. (2016).** Wing shape changes: a morphological view of the *Diabrotica virgifera virgifera* European invasion. *Biological Invasions*, **18**, 3401-3407.
- Moller, A.P. & Zamora-Muñoz, C. (1997).** Antennal asymmetry and sexual selection in a cerambycid beetle. *Animal Behaviour*, **54**, 1509-1515.
- Nair, P., Hunter, A.H., Worsham, M.L., Stehle, M., Gibson, J.R. & Nowlin, W.H. (2019).** Sexual dimorphism in three species of *Heterelmis* Sharp (Coleoptera: Elmidae). *The Coleopterists Bulletin*, **73**, 1075-1083. DOI: [10.1649/0010-065X-73.4.1075](https://doi.org/10.1649/0010-065X-73.4.1075)
- Ober, K.A. & Connolly, T.C. (2015).** Geometric morphometric and phylogenetic analyses of Arizona Sky Island populations of *Scaphinotus petersi* Roeschke (Coleoptera: Carabidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **175**, 107-118.
- Özdikmen, H. (2010).** The Turkish Dorcadiini with zoogeographical remarks (Coleoptera: Cerambycidae: Lamiinae). *Munis Entomology & Zoology*, **5**, 380-498.
- Özdikmen, H. (2016).** Dorcadionini of Turkey (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Natural History*, **50**, 37-38.
- Pizzo, A., Mercurio, D., Palestrini, C., Roggero, A. & Rolando, A. (2006).** Male differentiation patterns in two polyphenic sister species of the genus *Onthophagus* Latreille, 1802 (Coleoptera: Scarabaeidae): a geometric morphometric approach. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **44**(1), 54-62.
- Pretorius, E. & Scholtz, C.H. (2001).** Geometric morphometrics and the analysis of higher taxa: a case study based on the metendosternite of the Scarabaeoidea (Coleoptera). *Biological Journal of the Linnean Society*, **74**(1), 35-50.
- Rohlf, F.J. (1999).** Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*, **16**, 197-223.
- Rohlf, F.J. (2013).** tpsDig, 2.17 (Web page: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>) (11 May 2020).
- Sukhodolskaya, R.A. & Saveliev, A.A. (2017).** Impact of environmental factors on the body shape variation and sexual shape dimorphism in *Carabus granulatus* L. (Coleoptera: Carabidae). *Zoological Systematics*, **42**(1), 71-89.
- Vesovic, N., Ivanovic, A. & Curcic, S. (2019).** Sexual size and shape dimorphism in two ground beetle taxa, *Carabus (Procrustes) coriaceus cerisyi* and *C. (Morphocarabus) kollari praecellens* (Coleoptera: Carabidae)-A geometric morphometric approach. *Arthropod Structure Development*, **49**, 1-9.
- Young, O.P. (2015).** Size relationships, early reproductive status, and mandibular wear in adult *Tetracha* (=Megacephala) *carolina* (L.) (Coleoptera: Carabidae: Cicindelinae). *The Coleopterists Bulletin*, **69**(1), 167-173.
- Wainwright, P.C. (1994).** Functional morphology as a tool in ecological research. In: Wainwright, P.C. & Reilly, S.M. (Ed), *Ecological morphology. Integrative organismal biology*, 42-59p, University of Chicago Press, USA.



## Sexual Dimorphism of the Pronotum in *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) Using Geometric Morphometrics

Atılay Yağmur OKUTANER      Ashlı DOĞAN SARIKAYA\*

Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Art and Science, Department of Anthropology, Kırşehir, Turkey.

Received: 11 November 2020

Accepted: 19 February 2021

Published: 31 March 2021

How to cite: Okutaner, A.Y. & Doğan Sarıkaya, A. (2021). Sexual Dimorphism of the Pronotum in *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) Using Geometric Morphometrics. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 88-91.  
Atf yapmak için: Okutaner, A.Y. & Doğan Sarıkaya, A. (2021). *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) Pronotumunda Geometrik Morfometri Kullanarak Eşeyssel Dimorfizm. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 88-91.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0002-8739-0122>  
ID: <https://orcid.org/0000-0001-6585-1824>

\*Corresponding author's:  
Ashlı DOĞAN SARIKAYA  
Kırşehir Ahi Evran University, Faculty of Art  
and Science, Department of Anthropology,  
40100, Kırşehir, Turkey.  
✉: [aslidgn@gmail.com](mailto:aslidgn@gmail.com)

**Abstract:** Sexual dimorphism is one of the most notable sources of phenotypic variation in animals. The expression of sexual traits varies widely for many species of insects. In this study, we analyzed the sexual size and shape dimorphism of pronotum in Turkish endemic species, *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae). Our results showed that there are a statistically significant sexual size and shape dimorphism in pronotum. Males have a smaller pronotum size than females, and the pronotum shape of males is longer and sharper than female. Multivariate regression results indicated that size has a negligible influence on the differentiation in pronotum shape between sexes.

**Keywords:** Coleoptera, *Dorcadion micans*, geometric morphometrics, sexual dimorphism, shape variation.

## *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) Pronotumunda Geometrik Morfometri Kullanarak Eşeyssel Dimorfizm

\*Sorumlu yazar:  
Ashlı DOĞAN SARIKAYA  
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi, Fen  
Edebiyat Fakültesi, Antropoloji Bölümü,  
Kırşehir, Türkiye.  
✉: [aslidgn@gmail.com](mailto:aslidgn@gmail.com)

**Öz:** Eşeyssel dimorfizm, hayvanlarda fenotipik varyasyonun en önemli kaynaklarından biridir. Birçok türdeki böcekler için eşeyssel özelliklerin ifadesi büyük farklılıklar gösterir. Bu çalışmada, Türkiye'de endemik tür olan *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 (Coleoptera: Cerambycidae) 'da pronotumun eşeyssel büyüklük ve şekil dimorfizmini analiz ettik. Sonuçlarımız, pronotumda istatistiksel olarak eşeyssel büyüklük ve şekil dimorfizmini göstermiştir. Erkekler dişilerden daha küçük pronotum boyutuna sahiptir ve erkeklerin pronotum şekli dişilerinkinden daha uzun ve daha keskindir. Çok değişkenli regresyon sonuçları, büyüklüğün cinsiyetler arasında pronotum şeklindeki farklılaşma üzerinde göz ardı edilebilir bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Coleoptera, *Dorcadion micans*, eşeyssel dimorfizm, geometrik morfometri, şekil varyasyonu.

### INTRODUCTION

Because of their biological characteristics such as slow mobility and flightless, members of the *Dorcadion* may divided into isolated populations. The quantitative and qualitative observations carried out on these isolated populations can provide important information about the evolution of the genus. (Baur et al., 2002; Baur et al., 2005; Doğan Sarıkaya et al. 2019). Morphological characters

usually employ for revealing differences between sexes. Entomologists pay attention to sexual dimorphism in many studies since the differences between sexes are not clear or the individuals are very small. Thus, finding distinctive external morphological characters is important in separating the sexes. Thus, to find a discriminative character allow easy determination of sexes (Benitez, 2013). Sexual size dimorphism is one of the most important factor of mating success in many species (Eberhard, 1979;



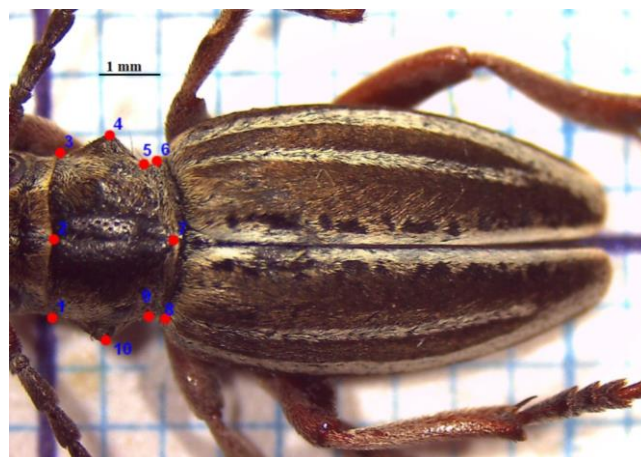
Brock et al., 1982; Emlen, 1996). The aspect of dimorphism varies across taxa with females generally being larger than males in insects (Andersson, 1994; Fairbairn et al., 2007). The Turkish endemic species, *Dorcadion micans* J. Thomson, 1867 was described by J. Thomson (1867) from Anatolia. The fore tarsus and gonads are often used to determine the sex of this species. Although there is a noticeable dimorphism in total size between the sexes in *Dorcadion* species, there is no study showing this dimorphism in different body parts. In addition, there is no study on how much this size variation reflects on the shape differences.

Morphometrics is a great technique that extracts the shape information of the organism being studied and combine them with multivariate statistics. It allows to researchers to solve complex problems in many fields of biology (Zelditch et al., 2012). This used technique in many studies in recent years, is extremely helpful to determine both the size and shape differences between the sexes of the Coleoptera species (Benítez, 2013; Benítez et al., 2013; Lemic et al., 2014; Lemic et al., 2016; Mikac et al., 2016; Nair et al., 2019; Vesovic et al., 2019). Geometric morphometrics was applied to analyze two sympatric species *Colophon haughtoni* Barnard, 1929, and *Colophon kawaii* Mizukami, 1997, to analyze intersexual and interspecific variation of size and shape (Eldred, et., al. 2016). The differences in size and shape of the body structures thought to be responsible for sexual selection in Japanese beetles were also studied by this method (Kelly, 2020). In the literature, there is also a study to identify the shape influence of size in *Cicindelidae trifasciata* Fabricius, 1781, on sexual and non-sexual characteristics (Donoso et al., 2020). However, no study has attempted to identify the sexual size and shape dimorphism on *Dorcadion micans* using geometric morphometrics. The aim of this study is to evaluate shape and size differentiation of pronotum between males and females and to identify shape influence of size in *Dorcadion micans*.

## MATERIAL AND METHOD

Samples of *Dorcadion micans* were collected from the locality in Beynam village, Bala/Ankara 39°41'34.2"N 32°56'13.3"E, on March-April 2018. Sexes of samples were distinguished by the shape and size of the fore tarsus and confirm by using gonads. A total of 77 specimens (32 females and 45 males) were used in this study. Pronotum of the beetles was positioned and photographed by a camera attached to Leica EZ4HD microscope. To capture the shape of pronotum, we selected configurations of 10 landmarks. (Figure 1). The landmarks

were digitized by using TpsDig2 software (Rohlf, 2013) and their detailed definitions are listed in (Figure 1).



**Figure 1.** Selected landmarks on *Dorcadion micans* male, representing the dorsal side of the pronotum: 1) Anterior margin left edge; 2) middle of anterior margin; 3) anterior margin right edge; 4) right spine apex; 5) right protuberance posterior limit; 6) posterior right edge; 7) middle of posterior margin; 8) posterior margin left edge; 9) left protuberance posterior limit; and 10) left spine apex.

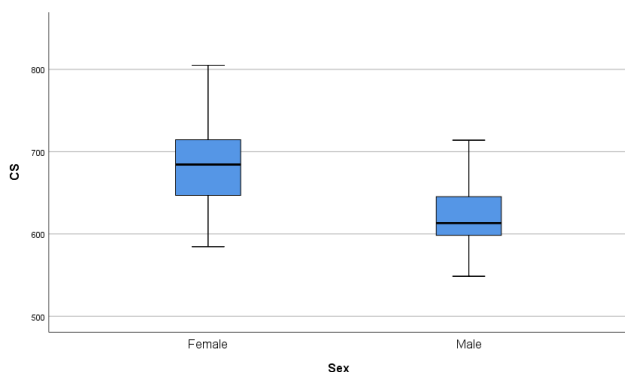
**Statistical Analysis:** The centroid size (square root of the sum of the square distances between each landmark and the centroid) was computed to compare pronotum size between sexes. (Bookstein, 1986). The software package MorphoJ (Klingenberg, 2011) was used to perform all statistical analyses in this study, except the independent samples t-test which was performed using the IBM SPSS 25. A generalized procrustes analysis (GPA) has been developed to superimposition of landmark configurations and to eliminate the effects of translation, rotation, and scale (Rohlf, 1999). Principal component analysis (PCA) was performed to determine morphometric variation, then discriminant function analysis (DFA) with cross validation was performed to determine the degree of morphological distinction between sexes. Finally, multivariate regression analysis was performed to determine the effect of size onto shape.

## RESULTS

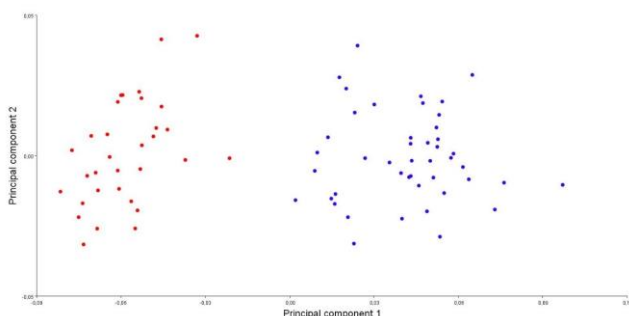
**Size Variation:** Centroid size variances were found to be equal between the sexes by Levene's test ( $F=2.486$ ,  $p=0.119$ ). The independent samples t-test showed that the CS mean of males is significantly different from that of the females. ( $t= 6.386$ ,  $df = 75$ ,  $p = 0.000$ ). Figure 2 shows box-plot of CS between sexes. Further, females appear to be larger than males with respect to CS of pronotum.

**Shape Variation:** PCA showed that 70.1% of the total variation of pronotum shape was explained by the first two principal components. (PC1 explains 64.1% and PC2,

6.8%). (Fig. 3). The analyzed sexes for pronotum shape were clearly separated along the first component axis.

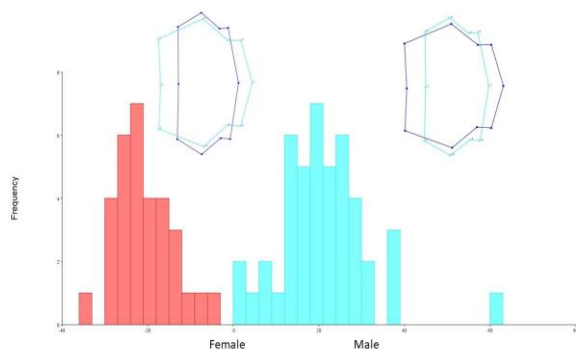


**Figure 2.** Box-plot of centroid size for pronotum for males and females of *Dorcadion micans*.



**Figure 3.** Shape differences between sexes, female (red) and male (blue).

DFA was performed to determine the degree of morphological separation between the sexes. The DFA with cross validation evidenced that 100% of female group and 100% of male group were correctly classified (Figure. 4). DFA showed that there is a statistically significant difference between means of procrustes distance of sexes ( $P < 0.0001$ ). Also, the results of DFA show that all the landmarks with the greatest variation indicating that females have a wider and shorter pronotum than males. This is also related to elongated and sharpened from both anterior and posterior parts of the pronotum shape in male (Figure 4).



**Figure 4.** Cross validation scores of shape variables of pronotum. Wire-frame graphs were shown for female and male respectively at the top of left and right of each figure. The extreme changes of shape in positive and negative direction were shown by the violet lines and mean shape of pronotum was shown by blue lines. The scale for figure is (-20 to 20).

Although multivariate regression of shape on centroid size was statistically significant that explained only 2.94 percent of the total variation in shape of pronotum (2.94%,  $P = 0.0151$ ). On the other words, pronotum shape difference is not related the size of the pronotum.

Although there many studies have found significant differences in pronotum shape in Coleoptera (Pizzo et al., 2006; Ober & Connolly, 2015; Eldred et al., 2016; Li et al., 2016), geometric morphometrics was applied here for sexual dimorphism to *Dorcadion micans* for the first time. Vesovic et.al. 2019 investigated morphometric variation in size and shape of the head, pronotum, and abdomen between the taxa and sexes of two ground beetles and sexual shape dimorphism was found for all three body units in the taxa. Geometric morphometrics also revealed significant size and shape differences in the head, pronotum and elytron of *Colophon* and female *Colophon kawaii* were significantly larger than males for all structures (Eldred et. al., 2016). Our results have shown that females have a larger pronotum size than males, consistent with the literature (Dascălu & Fusu, 2012). Sexual size and shape dimorphism are also evident in pronotum of *Dorcadion micans*. Multivariate regression of shape on size results indicated that size has negligible influence on the differentiation in pronotum shape among sexes. Thus, it can be said that the pronotum shape changes between the sexes are independent of pronotum size.

## CONCLUSION

According to the results, the size and shape of the pronotum is an important morphological feature to distinguish the different sexes of *Dorcadion*. Geometric morphometrics is a powerful approach to analyze the sexual size and shape dimorphism in *Dorcadion micans*. More studies are needed to understand what causes the sexual shape dimorphism in beetles.

## REFERENCES

- Andersson, M. (1994). *Sexual selection*. Princeton, Princeton University Press, USA, 247-297p.
- Baur, B., Zschokke, S., Coray, A., Schläpfer, M. & Erhardt, A. (2002). Habitat characteristics of the endangered flightless beetle *Dorcadion fuliginator* (Coleoptera: Cerambycidae): implications for conservation. *Biological Conservation*, **105**, 133-142.

- Baur, B., Coray, A., Minoretti, N. & Zschokke, S. (2005).** Dispersal of the endangered flightless beetle *Dorcadion fuliginator* (Coleoptera: Cerambycidae) in spatially realistic landscapes. *Biological Conservation*, **4**, 9-61.
- Benítez, H.A. (2013).** *Sexual dimorphism using geometric morphometric approach*. In: Moriyama H (Ed.) *Sexual Dimorphism*. IntechOpen, London, 35-50p.
- Benítez, H.A., Sanzana, M.J., Jerez, V., Parra, L.E., Hernandez, C.E. & Canales-Aguirre, C.B. (2013).** Sexual shape and size dimorphism in carabid beetles of the genus *Ceroglossus*: is geometric body size similar between sexes due to sex ratio? *Zoological Science*, **30**, 289-295.
- Bookstein, F.L. (1986).** Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. *Statistical Science*, **1**(2), 181-222.
- Brock, T.H., Guinness, F.E. & Albon, S.D. (1982).** *Red deer: behavior and ecology of two sexes*. University of Chicago press, USA, 1-40p.
- Dascălu, M. & Fusu, L. (2012).** *Dorcadion axillare* Küster, 1847 (Coleoptera: Cerambycidae): distribution, morphometrics, karyotype and description of a new subspecies from Romania. *Zootaxa*, **3322**(1), 35-48. DOI: [10.11646/zootaxa.3322.1.2](https://doi.org/10.11646/zootaxa.3322.1.2)
- Doğan Sarıkaya, A., Okutaner, A.Y. & Sarıkaya, Ö. (2019).** Geometric morphometric analysis of pronotum shape in two isolated populations of *Dorcadion anatolicum* Pic, 1900 (Coleoptera: Cerambycidae) in Turkey. *Turkish Journal of Entomology*, **43**(3), 263-270. DOI: [10.16970/entoted.525860](https://doi.org/10.16970/entoted.525860)
- Donoso, S.E., Angulo-Bedoya, M., Lemic, D. & Benítez, H.A. (2020).** Assessing the influence of allometry on sexual and non-sexual traits: An example in *Cicindelidia trifasciata* (Coleoptera: Cicindelinae) using geometric morphometrics. *Zoologischer Anzeiger*, **287**, 61-66.
- Eberhard, M.J. (1979).** Sexual selection, social competition, and evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society*, **123**, 222-234.
- Eldred, T., Meloro, C., Scholtz, C. & Murphy, D. (2016).** Does size matter for horny beetles? A geometric morphometric analysis of interspecific and intersexual size and shape variation in *Colophon haughtoni* Barnard, 1929, and *C. kawaii* Mizukami, 1997 (Coleoptera: Lucanidae). *Organism Diversity Evolution*, **16**, 821-833.
- Emlen, D.J. (1996).** Artificial selection on horn length-body size allometry in the horned beetle *Onthophagus acuminatus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Evolution*, **50**, 1219-1230.
- Fairbairn, D.J. (2013).** *Odd Couples: Extraordinary Differences between the Sexes in the Animal Kingdom*. Princeton University Press, USA, 1-9p.
- Kelly, C.D. (2020).** Sexual selection on size and shape in Japanese beetles (*Popillia japonica*). *Behavioral Ecology*, **31**(4), 1073-1083.
- Klingenberg, C.P. (2011).** MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, **11**(2), 353-357.
- Lemic, D., Benítez, H.A. & Bazok, R. (2014).** Intercontinental effect on sexual shape dimorphism and allometric relationships in the beetle pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). *Zool. Anz. J. Comp. Zool.*, **253**(3), 203-206.
- Lemic, D., Benítez, H.A., Püschel, T.A., Gasparic, H.V., Satvar, M. & Bazok, R. (2016).** Ecological morphology of the sugar beet weevil Croatian populations: Evaluating the role of environmental conditions on body shape. *Zool. Anz. J. Comp.Zool*, **260**, 25-32.
- Li, S., Ricchiardi, E., Bai, E.M. & Yang, X. (2016).** A taxonomy review of *Oreoderus* Burmeister, 1842 from China with a geometric morphometric evaluation (Coleoptera: Scarabaeidae). *Zookeys*, **552**, 67-89. DOI: [10.3897/zookeys.552.6096](https://doi.org/10.3897/zookeys.552.6096)
- Nair, P., Hunter, A.H., Worsham, M.L., Stehle, M., Gibson, J.R. & Nowlin, W.H. (2019).** Sexual dimorphism in three species of *Heterelmis* Sharp (Coleoptera: Elmidae). *Coleopt. Bull*, **73**, 1075-1083.
- Ober, K.A. & Connolly, T.C. (2015).** Geometric morphometric and phylogenetic analyses of Arizona Sky Island populations of *Scaphinotus petersi* Roeschke (Coleoptera: Carabidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, **175**, 107-118.
- Pizzo, A., Mercurio, D., Palestini, C., Roggero, A. & Rolando, A. (2006).** Male differentiation patterns in two polyphenic sister species of the genus *Onthophagus* Latreille, 1802 (Coleoptera: Scarabaeidae): a geometric morphometric approach. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, **44**(1), 54-62.
- Rohlf, F.J. (1999).** Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*, **16**, 197- 223.
- Rohlf, F.J. (2013).** tpsDig, 2.17 (Web page: <http://life.bio.sunysb.edu/morph>) (Date accessed:11.05.2020).
- Vesovic, N., Ivanovic, A. & Curcic, S. (2019).** Sexual size and shape dimorphism in two ground beetle taxa, *Carabus (Procrustes) coriaceus cerisyi* and *C.(Morphocarabus) kollari praecellens* (Coleoptera: Carabidae)-A geometric morphometric approach. *Arthropod Structure & Development*, **49**, 1-9.
- Zelditch, M., Swiderski, D., Sheets, D. & Fink, W. (2004).** *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. Elsevier, London, UK, 1-70p.



## Temel Amino Asitlerin Erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvalarının Gelişmesine ve Sentezledikleri Protein miktarına Etkileri

Mehmet SULANÇ\*

Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 01330 Sarıçam, Adana, Türkiye

Geliş Tarihi: 24 Kasım 2021

Kabul Tarihi: 20 Şubat 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Balta, F., Verep, B. & Akkan, T. (2021). Temel Amino Asitlerin Erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larvalarının Gelişmesine ve Sentezledikleri Protein miktarına Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 92-98.

How to cite: Balta, F., Verep, B. & Akkan, T. (2021). Effects of essential amino acids on development and synthesised protein amount of male larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 92-98.

\*ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0938-0084>

**\*Sorumlu yazarın:**

Mehmet SULANÇ  
Çukurova Üniversitesi, Fen-Edebiyat  
Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 01330 Sarıçam,  
Adana, Türkiye.  
✉: [msulanc@cu.edu.tr](mailto:msulanc@cu.edu.tr)

**Öz:** Temel amino asitlerin farklı oranlarının bir endoparazitoid hymenopter türü olan *Pimpla turionellae* L. erkek larvalarının gelişme hızı ve sentezledikleri protein miktarı üzerine etkileri, larvaların kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler kullanılarak aseptik koşullarda beslemek suretiyle incelenmiştir. İzolösin, lösin ve metiyoninin larvaların gelişim hızı ve protein sentezi üzerinde kalitatif ve kantitatif olarak kritik bir etkiye sahip olduğu, izolösin ve lösinin besindeki oranının %50 artırılması, metiyoninin %50 azaltılması ile hem gelişme hızı hem de protein sentezi üzerinde değişik etkiler yaptığı gösterilmiştir.

Arjinin, histidin, lizin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valinin kalitatif ve kantitatif olarak kritik etkisi olmadığına ve kontrol besindeki oranlarının optimal kabul edilmesi gerektiğine karar verildi.

**Anahtar kelimeler:** Gelişme, *Pimpla turionellae*, protein sentezi, temel amino asitler.

## Effects of essential amino acids on development and synthesised protein amount of male larvae of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae)

**Abstract:** Effects of different essential amino acids ratios on the rate of development and the percentage of synthesised protein amount on the male larvae of endoparasitoid hymenopterous, *Pimpla turionellae* L. were investigated by using chemically defined synthetic diets under aseptic conditions. It was shown that the amino acids isoleucine, leucine and methionine had a qualitatively and quantitatively critical effect on the developmental rate and protein synthesis increased after increasing the rate of isoleucine and leucine by 50% and decreasing the rate of methionine by 50%, however decreased both the development date and protein synthesis.

It was decided that arginine, histidine, lysine, phenylalanine, threonine, tryptophan and valine had no critical qualitative or quantitative effect and that their rates in the control diet should be assumed optimal.

**Keywords:** Development, essential amino acids, *Pimpla turionellae*, synthesised protein.

## GİRİŞ

Böcekler için geliştirilen kimyasal yapısı belirli sentetik besinler, bu canlıların kalitatif ve kantitatif besinsel ihtiyaçlarını doğru bir şekilde saptamayı mümkün kılması yanında bilinmeyen besin bileşenlerinin metabolik

olaylar üzerine yaptığı ve açıklanması zor olan etkileri de minimuma indirmektedir.

Bu konuda fitofaj böcekler ile yapılan çok sayıda araştırma bulunduğu halde entomofaj böcekler ile yapılan çalışmalar hızla sürdürülmektedir (Thompson, 1976a; Thompson, 1976b; Thompson, 1986; Dadd, 1985; Chen, 1985; Thompson & Lee, 1994; Richards & Edwards,

1999; Assar vd., 2010). Entemofaj böceklerin günümüzde gereksinimi giderek artan biyolojik savaşındaki önemli yerleri nedeniyle, bu grubun besinsel gereksinimlerinin, konak-parazitoid ilişkilerinin ve bu ilişkilerde rol oynayabilecek metabolik olayların iyi bir şekilde anlaşılmasının önemini arttırmaktadır.

Parazitik hymenopter türlerinin de biyolojik savaşında kullanılabilirliği son zamanlarda bu böceklere karşı ilgiyi arttırmış ve bu gruba giren bazı böcek türleri için kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler geliştirip kullanılarak bu besinlerdeki bileşenlerden bazılarının yaşama ve gelişme (Yazgan, 1981; Yazgan, 1982; Çelik, 1984), yumurta bırakma ve üreme (Emre, 1988; Emre & Yazgan, 1990), glikojen biyosentezi (Yanikoğlu, 1985), vitamin biyosentezi (Sulanç & Emre, 2000) ve protein biyosentezine (Sulanç & Yazgan, 1990) kalitatif ve kantitatif etkileri incelenmiştir.

*Pimpla turionellae* L. bir endoparazitoid türüdür ve bu böceğin ergin evreye kadar olan kalitatif amino asit gereksinimleri, temel ve temel olmayan amino asit karışım oranları ile sadece temel amino asitlerden oluşan bir karışımın değişik oranlarının etkileri (Çelik, 1984), karbonhidrat gereksinimleri ve değişik karbonhidratların larval evrede yaşama, gelişme ve glikojen sentezine etkileri (Yanikoğlu, 1985), tween 80, yağ asidi karışımı ve inorganik tuzların gelişme ve yaşama süresine etkileri (Yazgan, 1981), aspartik asit, glutamik asit ile bunların amidlerinin (Sulanç & Yazgan, 1990) ve inorganik tuzların (Sulanç vd., 1992) larvaların gelişme ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri araştırılsa da böceği *in vitro* yetiştirmede gereksinim duyulan dengeli bir besinin geliştirilmesinde açıklığa çıkarılması gereken daha birçok önemli konunun bulunduğu görülmektedir.

Böceklerdeki metabolik olayları, sadece temel besin bileşenleri olarak ifade edilen karbonhidratlar ve yağlar gibi enerji oluşturan maddeler etkilemeyip birinci derecede yapısal bir işleve sahip protein ve amino asitler gibi besin bileşenleri de etkilemektedir. Besinsel bileşenlerin, özellikle temel amino asitlerin metabolik olaylara etkileri üzerindeki çalışmalar parazitik hymenopter türlerinde son derece sınırlıdır. Bu nedenle bu gruba giren böcekler hakkında bazı genellemeler yapabilmek için bu tür çalışmalara gereksinim vardır. Bu tür çalışmalar şüphesiz konak-parazitoid ilişkilerinin anlaşılmasına da büyük ölçüde katkıda bulunacaktır. Örneğin parazitik bir hymenopter türü olan *Devorgilla canescens* (Grav.) dişi bireylerinin yumurta bırakmak için parazitlenmiş ve parazitlenmemiş konaklar arasındaki ayırımı özellikle lösin olmak üzere konak hemolenfindeki diğer bazı amino asit düzeylerine bağlı yaptıklarını göstermişlerdir (Fisher & Ganesalingam, 1970).

Bu çalışmada kimyasal yapısı bilinen sentetik besinler kullanılarak temel amino asitlerin erkek *P. turionellae* larvalarının gelişme hızı ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri incelenmiştir

## MATERYAL VE METOT

**Stok Kültür:** *P. turionellae*'nin stok kültürü, laboratuvarında 24±1°C sıcaklık, %45±5 bağıl nem ve 14 saat aydınlanma periyodu koşullarında yetiştirildi. Doğal konak olarak büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L.'nin genç pupları kullanıldı. Yeni erginleşen *P. turionellae* bireyleri ilk günlerde, günde bir saat süreyle bal çözeltisi (%50) ve *G. mellonella* pupu hemolenfi ile beslendi. Parazitlenme sonucu puftan çıkan ergin *P. turionellae* dişileri çiftleştirilmeden ayrı kafeslere alındı ve deneyler sadece bu ergin dişilerin bıraktıkları yumurtaların açılmasından elde edilen erkek larvalarla yapıldı. Bu şekilde devam ettirilen stok kültürden istenen zamanda ve sayıda yumurta veya larva elde edildi.

**Deney Besinlerinin Hazırlanması ve Larvaların Beslenmesi:** Kimyasal yapısı belli sentetik besinlerin hazırlanması, sterilizasyonu ve deney tüplerine dağıtılmasında Yazgan (1972, 1981) tarafından geliştirilen yöntemler ve teknikler kullanıldı. *G. mellonella* pupuna bırakıldıktan 24 saat sonra diseksiyonla çıkartılarak NaCl çözeltisi (%0,8) içine alınan ve gelişmiş embriyoya sahip yumurtalar Yazgan, (1972) tarafından geliştirilen teknikle sterilize edildi.

Yumurtadan yeni çıkmış ve henüz besin almamış larvalar, steril koşullarda içinde yaklaşık 0,3 ml besin bulunan 10x75 mm ölçülerindeki deney tüplerine tek tek konuldu ve tüplerin ağzı lastik mantar ile kapatıldı. İçindeki besine larva aşılardan deney tüpleri, hergün binoküler mikroskopta yapılan kısa bir gözlem periyodu hariç deney sonuna kadar karanlıkta tutuldu. Denemen her besin için üç tekrar yapıldı ve her tekrarda 10 larva kullanıldı. Besine aşılandıktan sonra ilk 48 saat içinde ölen ve mikroorganizmalar tarafından kirletilen tüplerdeki larvalar değerlendirilmedi. Sentetik besinlerle yapılan beslenme deneyleri stok kültür ile aynı laboratuvar koşullarında yürütüldü.

**Kontrol Besinin Hazırlanması:** Beslenme deneylerinde kontrol besini olarak kullanılan kimyasal yapısı belli sentetik besinin bileşimi Tablo 1'de görülmektedir.

**Temel Amino Asitleri İçeren Besinlerin Hazırlanması:** *P. turionellae* için temel olan 10 amino asitin kontrol besindeki miktarının artan ve eksilen oranlarındaki etkilerinin incelendiği deney serisinde her amino asit için üçer besin olmak üzere toplam 30 besin hazırlandı. Bu amaçla her amino asit için 3 ayrı oran

denenmiştir. Bunlar sırasıyla 1/2, 1/1.(Kontrol), ve 3/2 si şeklindedir. Bu oranlar her amino asit için ilgili çizelgede belirtilmiştir.

Bütün besinlerde denenen temel amino asitlerin azalan veya artan miktarları glisin miktarını arttırmak veya azaltmak suretiyle ayarlanmış olup glisin oranındaki değişiklik dışında diğer bütün besinsel bileşenler kontrol besindekilerle aynıdır.

**Tablo 1.** *P. turionellae* larvalarını beslemek için kullanılan kimyasal yapısı belirli sentetik besinin bileşimi.

**Table 1.** Composition of synthetic nutrient with certain chemical structure used to feed *P. turionellae* larvae.

Besin Bileşeni	mg/100ml Besin	Besin Bileşeni	mg/100ml Besin
<b>L-Aminoasit Karışımı</b>	<b>6250,00</b>	<b>Lipid Karışımı</b>	<b>295,99</b>
Alanin	312,50	Kolesterol	72,9167
Arjinin-HCl	381,25	Linoleik asit	3,6372
Aspartik asit	400,00	Linolenik asit	13,5330
Fenilalanin	418,75	Oleik asit	5,4253
Glisin	487,50	Palmitik asit	0,3559
Glutamik asit	656,25	Stearik asit	0,1215
Hidroksiprolin	106,25	Tween 80	200,0000
Histidin-HCl	150,00		
<b>İzölösün</b>	<b>325,00</b>	<b>Suda Çözünen Vitaminler</b>	<b>251,80</b>
Lizin	362,50	Askorbik asit	9,3947
Lösün	481,25	Biyotin	0,0336
Metiyonin	187,50	Folik asit	0,1007
Prolin	468,75	İnozitol	15,0987
Serin	418,75	Ca-Pantotenat	2,4829
Sistin-HCl	81,25	Kolin klorür	218,0921
Tirozin	218,75	Nikotinik asit	5,0329
Treonin	337,50	Pridoksin-HCl	0,2516
Triptofan	87,50	Riboflavin	1,1743
Valin	368,75	Tiamin-HCl	0,1342
<b>İnorganik Karışımı</b>	<b>390,00</b>	<b>Diğerleri</b>	<b>4306,94</b>
CaCl <sub>2</sub>	19,08	Agar	625,00
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	3,01	Glukoz	3000,00
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	3,50	Ribonükleik asit	293,13
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	11,22	Potasyum hidroksit (2N)	364,00
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	234,07	Potasyum fosfat (2N)	24,81
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	82,08		
MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	0,25		
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .12 H <sub>2</sub> O	32,34	<b>Damıtık Su</b>	Toplam Hacim
ZnCl <sub>2</sub>	4,45		100 ml oluncaya kadar

#### Yaş Ağırlığa Göre Total Protein Yüzdesi Tayini;

**Total Protein Tayininde Kullanılan Örnekler:** Total protein tayini sentetik besinlere aşılardan ve aşılamaı takiben 12.günde geçtikleri evreye bakılmaksızın deney tüplerinden çıkartılan larvalarda yapıldı. Deney tüplerinden saf su ile çalkalayarak bir filtre kâğıdı üzerine alınan larvaların üzerindeki besin artıkları yine saf su ile yıkanarak temizlendi. Yıkanmış larvaların vücut yüzeyindeki su, filtre kâğıdı ile alındıktan sonra tartılan larvalar 5 ml %10 'luk triklorasetik asit (TCA: Merck, extra pure) çözeltisi içeren deney tüplerine aktararak öldürüldü ve homojenizasyona kadar +4 °C 'de saklandı.

**Proteinin Özütleme ve Tayini:** Larvalar 24.000 devir/dakika'da Ultra Turrax (IKA-T25) homejenizatörde 10 dakika süre ile homojenleştirildi. Elde edilen homojenat 3500 devir/dakika'da her biri 15 dakika olmak üzere iki defa santrifüjlendi (Hettich:Universal-1200). Her santrifüjleme sonunda ayrılan süpernatant

atılarak ortamdaki glikojenin uzaklaştırılması sağlandı (Roe vd., 1961). Daha sonra elde edilen çökelti üzerine 5 ml etil alkol (%96) ilave edilerek 3500 devir/dakika'da santrifüjlendi ve süpernatant uzaklaştırıldı. Lipidlerin uzaklaştırılması için yapılan bu işlem üç defa tekrarlandı. Son santrifüjleme işleminden sonra protein içerikli çökelti, etüvde 37°C'de 24 saat süre ile bekletilerek alkolü uçuruldu.

Elde edilen protein içerikli örnek bir saat camında ezilerek karıştırıldı ve saf su ile toplam hacim 5 ml olacak şekilde bir çözelti hazırlandı. Örneklerdeki protein miktarını tayin etmek için "Kantitatif Biüret Testi" (Plummer, 1971) uygulandı. Bu amaçla 2 ml örnek üzerine 3 ml biüret ayırıcı eklendi ve oluşan karışım etüvde 37 °C de 15 dakika bekletildi. Daha sonra örnekler 3500 devir/dakika'da santrifüjlenerek süpernatant kısım spektrofotometre tüplerine aktarıldı ve ölçümler Bausch and Lomb: Spectronic 20 marka spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda yapıldı. Örnekte bulunan total protein konsantrasyonunu hesaplamak için , saf yumurta albümini ile hazırlanan standartlardan elde edilen  $Y = 0,086 X + 0,038$  "Regresyon" doğrusu kullanıldı.

#### Verilerin Elde Edilmesi ve Değerlendirilmesi:

Denenen besinlerin etkileri, böceğin gelişme hızı (12.günde beşinci evreye geçen ortalama larva yüzdesi) ve total protein yüzdesi (12.günde yaş ağırlığa göre birey başına düşen ortalama protein yüzdesi) saptanmak suretiyle hesaplandı. Verilerin analizinde SPSS 21.0 paket program kullanılmış ve Varyans Analizi ile Student-Newman Keul's Test (SNK)" testleri uygulanmıştır (Sokal & Rohfl, 1995). Ortalamalar arası fark 0,01 olasılık seviyesinde "F"değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edildi.

## BULGULAR

Farklı oranlarda temel amino asit içeren besinlerin *P.turionellae* larvalarının gelişme hızı ve sentezlenen protein yüzdesine etkileri Tablo 2'de görülmektedir.

Kontrol besinindeki arjinin oranını %50 eksilterek ve %50 arttırarak hazırlanan besinler arasında gerek gelişme hızı gerekse yaş ağırlığa göre birey başına düşen ortalama protein yüzdesi açısından önemli bir fark bulunamamıştır. Yüzde elli azaltılan yani %0,191 oranında arjinin içeren besinde larvaların büyük bir kısmı 12.günde beşinci evreye geçmeyi başarmışlardır. Kontrol besinindeki %50 si oranında artmış arjinin içeren besinde ise larvaların gelişme hızı kontrol besini ile saptanan gelişme hızına benzediği gibi sentezlenen protein yüzdesi bakımından da önemli bir fark bulunmamaktadır.

Kontrol besinine göre histidin oranı %50 oranında eksiltelen ve arttırılan yani %0,075 ve %0,225 oranında histidin içeren besinlerde larvaların gelişme hızı

yavaşlamış ve bu iki besinde larvaların sadece %80 ile %85 'i 12.günde beşinci evreye geçebilmişlerdir. Bu besinlerde beslenen larvaların gelişme hızı birbirine benzer olup, kontrol besini ile beslenenler ile aralarında istatistik fark bulunmuştur. Gelişmedeki bu farklılara rağmen saptanan protein yüzdesi önemli düzeyde etkilenmemiştir.

**Tablo 2.** Temel aminoasit oranlarının *P. turionellae* larvalarının gelişme hızı ve sentezlenen protein yüzdesine etkisi.

ORT. ± S.H.: Üç tekrarın Ortalaması ± Standart Hata, \*: Kontrol Besini  
F: Amino asitlerin istatistik analizleri ayrı ayrı yapılmış, aynı sütunda aynı harfi içeren değerler birbirinden farklıdır, P<0.01.

**Table 2.** The effect of basic amino acid ratios on the growth rate of *P. turionellae* larvae and the percentage of synthesized protein.

ORT. ± S.H.: Mean ± Standart Errors of Mean, \*: Control diet  
F: Statistical analysis of amino acids made separately, data shown with different letters are significant at the P<0.01 level.

Besindeki Aminoasit Yüzdesi	Başlangıç Larva sayısı	5. evreye geçen larva yüzdesi (ORT. ± S.H.) F	Ortalama yaş ağırlık (mg)	Yaş ağırlığına göre protein yüzdesi (ORT.±S.H.) F
<b>Arjinin</b>				
0,191	27	92,13 ± 3,95 a	19,57	1,07 ± 0,12 a
0,381*	27	100,00 ± 0,00 a	20,69	1,16 ± 0,16 a
0,572	26	100,00 ± 0,00 a	21,54	1,28 ± 0,20 a
<b>Histidin</b>				
0,075	25	89,57 ± 2,48 a	20,12	1,02 ± 0,03 a
0,150*	27	100,00 ± 0,00 b	21,23	1,25 ± 0,10 a
0,225	26	85,47 ± 2,76 a	20,89	1,06 ± 0,15 a
<b>İzolösin</b>				
0,163	27	83,80 ± 4,42 a	20,08	1,08 ± 0,05 a
0,325*	26	100,00 ± 0,00 b	21,56	1,14 ± 0,04 a
0,488	25	100,00 ± 0,00 b	23,26	2,36 ± 0,28 b
<b>Lösin</b>				
0,241	25	75,93 ± 0,93 a	19,08	1,09 ± 0,18 a
0,481*	28	100,00 ± 0,00 b	22,56	1,20 ± 0,38 a
0,722	27	100,00 ± 0,00 b	24,96	2,43 ± 0,32 b
<b>Lizin</b>				
0,181	25	92,13 ± 3,95 a	23,82	1,48 ± 0,16 a
0,362*	26	100,00 ± 0,00 a	22,79	1,19 ± 0,14 a
0,543	26	63,20 ± 0,93 b	16,28	0,68 ± 0,12 b
<b>Metiyonin</b>				
0,094	27	100,00 ± 0,00 a	23,21	2,13 ± 0,21 b
0,187*	27	100,00 ± 0,00 a	20,61	1,16 ± 0,02 a
0,281	26	50,50 ± 3,67 b	13,28	0,45 ± 0,13 c
<b>Fenilalanin</b>				
0,209	26	80,57 ± 2,48 a	19,98	1,02 ± 0,08 a
0,418*	28	100,00 ± 0,00 b	21,36	1,18 ± 0,11 a
0,627	25	100,00 ± 0,00 b	21,28	1,04 ± 0,06 a
<b>Treonin</b>				
0,169	24	100,00 ± 0,00 a	22,55	1,09 ± 0,13 a
0,337*	26	100,00 ± 0,00 a	22,18	1,17 ± 0,08 a
0,506	26	100,00 ± 0,00 a	21,25	1,28 ± 0,09 a
<b>Triptofan</b>				
0,044	23	100,00 ± 0,00 a	20,86	1,12 ± 0,10 a
0,087*	25	92,13 ± 3,95 a	22,26	1,20 ± 0,09 a
0,131	24	100,00 ± 0,00 a	21,08	1,26 ± 0,04 a
<b>Valin</b>				
0,184	23	83,80 ± 4,42 a	20,91	1,11 ± 0,14 a
0,386*	23	100,00 ± 0,00 b	22,15	1,15 ± 0,05 a
0,552	24	100,00 ± 0,00 b	22,06	1,31 ± 0,18 a

İzolösin oranı %0,163 olan besindeki larval gelişme hızı, kontrol besini ve %0,488 oranında izolösin içeren besine göre yavaş olmuştur. İzolösinin %50 oranında azaltıldığı besindeki larvaların %83'ü beşinci evreye geçtikleri halde %50 oranında artırıldığı besindeki larvaların tamamı 12.günden evvel beşinci evreye geçmişlerdir. İzolösinin %50 oranında azaltıldığı besin ile kontrol besini ve %50 oranında artırılmış izolösin içeren besinler arasında gelişme hızı açısından önemli farklar bulunmaktadır. Larvaların sentezledikleri protein yüzdeleri açısından ise %0,163 oranında izolösin içeren besin ile

kontrol besini arasında fark bulunmamakla beraber, %0,488 oranında izolösin içeren besin ile kontrol besini arasında oldukça önemli bir fark bulunmaktadır. Kontrol besininde sentezlenen protein yüzdesi 1,14 olduğu halde, artırılan besinde 2,36 gibi bir değere ulaşmıştır.

Benzer şekilde lösin oranındaki değişiklikler de böceğin gelişme hızı ve sentezlediği protein yüzdesine etkileri bakımından önemli farklar göstermiştir. Larval gelişme hızı %0,241 oranında lösin içeren besinde kontrol besini ve %0,722 oranında lösin içeren besine göre yavaşlamıştır. Besindeki %0,241 oranındaki lösin, larvaların %75,93'ünün 12.günde beşinci evreye geçmelerini sağladığı halde, lösin oranı %0,722'ye artırıldığı zaman larvaların tümü 12.günde beşinci evreye geçebilmiştir. Lösin miktarı %50 oranında azaltılan besin ile kontrol besini ve lösinin %50 oranında artırıldığı besinler arasında larval gelişme açısından önemli fark bulunmuştur. Sentezlenen protein yüzdeleri açısından da %0,722 oranında lösin içeren besinden elde edilen değer, kontrol besininkinden ve azalan oranda lösin içeren besininkinden oldukça büyük olup, istatistik bakımından da oldukça önemlidir (Tablo 2.).

Kontrol besinindeki lizin oranının %50 azaltılması gelişme hızını ve sentezlenen protein yüzdesini önemli sayılabilecek ölçüde etkilemediği halde %50 oranında artırılması gelişme hızını ve sentezlenen protein yüzdesini önemli ölçüde azaltmıştır.

Metiyonin oranının %50 azaltılarak (%0,094) hazırlanan besindeki larval gelişme hızı kontrol besine göre çok hızlı bir şekilde gerçekleşmiş olup, yaş ağırlık artışı ile birlikte birey başına sentezlenen protein yüzdesinin de 2,13'e yükselmesine neden olmuştur. Halbuki kontrol besinde bu süre içindeki sentezlenen protein yüzdesi 1,16'dır. Metiyoninin %50 oranında artırıldığı (%0,281) besinde ise larval gelişme hızı %50,50 olup, bu gelişmeye paralel olarak sentezlenen protein yüzdesi de 0,45 olarak bulunmuştur. Azaltılan ve artırılan besinler arasında kontrol besine göre sentezlenen protein yüzdesi açısından önemli farkların bulunduğu Tablo 2.'de açıkça görülmektedir.

Fenilalanin oranının yarıya indirildiği besindeki larval gelişme hızı, kontrol besin ve fenilalanin oranının %50 oranında artırıldığı besinlerdekine göre gecikmiştir. Fenilalanin miktarının azaltıldığı besindeki larval gelişme %80 civarında olup bu oran kontrol besinine ve artırılan besindeki larval gelişmeye göre istatistik bakımından önemli bulunmakla beraber, larvaların sentezledikleri protein yüzdeleri açısından ne azaltılan ne de artırılan besinlerde kontrol besinine göre önemli bir fark bulunmamaktadır.

Treonin ve triptofanın kontrol besinindeki oranlarının %50 azaltıldığı ve aynı oranda artırıldığı besinlerde kontrol besinine göre gerek larval gelişme ve

gerekse sentezlenen protein yüzdesi bakımından önemli farklar bulunmamaktadır.

Denenen valin oranlarının değişik iki konsantrasyonu larvaların sentezledikleri protein yüzdelere etkileri bakımından kontrol besini ile aynı etkiyi yapmaktadır. Ancak larval gelişme hızı açısından ise bu oranların etkileri arasında bazı önemli farklılıklar mevcuttur. Valin oranının yarıya indirildiği besinde 12.günde beşinci evreye geçen larva oranı %83,80 olup bu oran kontrol besini ve valin oranının artırıldığı besine göre oldukça düşüktür. Bununla birlikte, besindeki valin miktarının yarı yarıya artırılması larval gelişme hızı üzerine pozitif bir etki yapmamıştır.

### SONUÇ VE TARTIŞMA

Bu araştırmada endoparazitik bir hymenopter türü olan *P. turionellae* larvalarının gelişmesine ve sentezlenen protein miktarına temel amino asitlerin her birinin farklı oranlarının kalitatif ve kantitatif etkileri ele alınmıştır.

Parazitik hymenopterlerde döllenmemiş yumurtalardan erkek bireyler meydana gelmektedir. Birçok böcek grubunda olduğu gibi parazitik hymenopterlerde de dimorfizm görülmektedir. Larval evrede erkek ve dişi bireyleri ayırt etmek mümkün olmadığından deneylerde dimorfizmden ortaya çıkabilecek sorunları ortadan kaldırmak amacıyla büyüklükleri az çok birbirine yakın olan larvalar kullanılmıştır. Bu özellikteki larvaları elde etmek için böceğin partenogenez özelliğinden yararlanılmış yani bütün deneylerde çiftleşmemiş dişilerden elde edilen yumurtalardan çıkan larvalar kullanılmıştır. Yapılan ön çalışmalar bu tür larvaların özellikle protein analizi için oldukça homojen özelliklere sahip son derece kullanışlı örnekler olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Temel amino asitlerin farklı oranlarının *P. turionellae* larvalarının gelişme ve sentezlenen protein miktarına en iyi etkiyi kontrol besinine göre %50 oranında artırılmış izolösün ile lösün ve %50 oranında azaltılmış metiyonin yapmıştır. *P. turionellae*'nin kalitatif amino asit ihtiyaçları ile yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre (Çelik, 1984), böcek için temel olduğu saptanan amino asitler arjinin, histidin, izolösün, lösün, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valin olarak bulunmuştur. *P. turionellae*'nin kalitatif amino asit ihtiyacının serbest yaşayan böceklerinkine benzemesi, "parazitik hymenopter larvalarının kalitatif bakımdan diğer böceklerle benzediği" (Yazgan, 1972) görüşünü desteklemektedir.

Besinlerdeki temel amino asitlerden herhangi birinin oranının azaltılması veya artırılması genelde *P. turionellae* larvalarının dördüncü veya beşinci evreye geçişini engellemişlerdir. Bu durum böceğin polifaj bir

endoparazit olma özelliğinden kaynaklanabilir. *P. turionellae* larvaları değişen temel amino asit oranlarına genel olarak bir tolerans göstermekle beraber, amino asitlerin bireysel kantitatif etkileri birbirleriyle karşılaştırıldığında bazı ayrıcalıklar olduğu görülür. Bu ayrıcalıklar dikkate alındığında, temel amino asitleri *P. turionellae* larvalarının gelişme ve protein sentezine kantitatif etkileri bakımından iki gruba ayırmak mümkündür.

Birinci gruba kantitatif bakımdan kritik önemi olan temel amino asitler dahil edilmiştir ki bunlar izolösün, lösün ve metiyonindir. Diğer gruba ise kantitatif bakımdan kritik önemi olmayan temel amino asitler dahil edilmiş olup bunlar da arjinin, histidin, lizin, fenilalanin, treonin, triptofan ve valindir. Besindeki izolösün oranı %50 oranında artırıldığı zaman sentezlenen protein yüzdesi artmıştır. Besindeki lösün oranının da %50 artırılması sentezlenen protein yüzdesini izolösüne benzer şekilde etkilemiştir. Benzer şekilde yüksek orandaki amino asitlerin tüm canlı türleri ve böceklerde sinirsel iletim, fosfolipit sentezi, enerji üretimi ve morfojenetik süreçler gibi metabolik olaylarda olumlu etkileri olduğu da (Chen, 1985; Assar vd., 2010) gösterilmiştir. Bu iki amino asitin kontrol besinindeki oranının ayrı ayrı %50 oranında artırılması aynı zamanda larval gelişmeyi de olumlu yönde etkilemiştir. Bu sonuçlar Yazgan, (1981) tarafından *P. turionellae* larvaları için geliştirilen sentetik besindeki izolösün ve lösün oranının böceğin ihtiyaç duyduğu optimum miktarın altında olduğu kanısını uyandırmaktadır. Böceğin amino asit metabolizmasında izolösün ve lösünün çok önemli bir rol oynadığını ortaya çıkaran bu sonuçlar aynı zamanda parazitik hymenopterler için geliştirecek sentetik besinlerde bu iki amino asitin üzerinde dikkatle durulması gereken birer besin bileşenleri olduğunu açıkça göstermektedir. Fisher ve Ganesalingam, (1970), parazitik bir hymenopter olan *D. canescens*'in parazitlenmiş ve parazitlenmemiş konaklar arasındaki farkı parazitlenmeden sonra konak hemolenfinde kaybolan lösün ve diğer bazı serbest amino asitlere göre anladığını göstermiş olmaları, konak hemolenfinde parazitlenme sonucu açılan larvaların lösüne ne kadar ihtiyaç gösterdiklerinin anlaşılması açısından son derece önemlidir. Arthur vd., (1972), lösünün *I. conquisitor*'de yumurta bırakmayı en fazla uyaran amino asitlerden biri olduğunu belirtmişlerdir. Sunulan çalışma izolösün ile lösünün *P. turionellae* larvalarının beslenmesinde ve total protein sentezinde önemli bir rol oynadığını ortaya çıkarmıştır. Bütün bu bilgiler, izolösün ile lösünün parazitik hymenopterlerin yaşamında çok değişik işlevlere sahip olabileceği konusunda fikir vermektedir. Nitekim serbest yaşayan bazı böcek türlerinde izolösün ve lösün arasında uygun bir dengenin mevcut olduğu ve bu iki amino asitten birinin besindeki konsantrasyonu optimum değerinin altında



olduğu zaman diğerinin konsantrasyonundaki artışın büyüme geciktirdiğini göstermiştir (Davis,1973). Bulgularımıza göre *P. turionellae* larvalarının beslenmesinde lösün ve izölösün arasında bir denge mevcut ise de bu denge büyük bir olasılıkla duygun değildir.

*P. turionellae* için kritik önemi olan diğer bir temel amino asit de metiyonindir. Metiyoninin oranı kontrol besinindeki oranının yarısına indirildiği zaman gelişme hızı olumlu yönde etkilendiği gibi sentezlenen protein yüzdesi de artmaktadır. Bu amino asitin kontrol besinindeki oranı %50 arttırıldığı zaman ise larval gelişme ve sentezlenen protein yüzdesi olumsuz yönde etkilenmiştir. Bu sonuçlar kontrol olarak kullanılan besindeki metiyonin oranının optimum miktarın üstünde olduğunu ve bu amino asitin kantitatif etkisini daha larval gelişme evreleri sırasında gösterdiğini işaret etmektedir. Artan metiyonin oranları *Oryzaephilus surinamensis* (L.)’de pup evresi sonrasındaki yaşamayı azaltmıştır (Davis, 1961a). Bu sonuçlar bulgularımızla uygunluk göstermektedir. Elde edilen verilere göre kontrol besinindeki metiyonin oranı *P. turionellae* larvalarının normal gelişme ve protein sentezini karşılayacak düzeyde olmakla beraber, besindeki metiyonin oranının %50 azaltılmasının larvaların gelişme ve sentezledikleri protein yüzdeleri üzerine daha iyi bir etki yaptığı açıktır. Benzer sonuçların Çelik (1984) tarafından *P. turionellae*’nın kantitatif temel amino asit ihtiyaçları üzerine yaptığı çalışmadan da elde edilmesi, bu üç amino asitin kontrol besinindeki miktarlarının optimum sınırların civarında olmadığını göstermektedir.

İkinci gruba giren ve *P. turionellae* için kantitatif bakımdan kritik önemi olmayan temel amino asitler olarak gruplandırığımız amino asitlerin kontrol besinindeki oranının %50 arttırılması veya azaltılması genellikle önemli sayılabilecek bir etki yapmamıştır. Bu durum, kontrol besininin bu amino asitler bakımından iyi dengelendiğini ve böceğin bu amino asitlere geniş sınırlar içinde tolerans gösterebildiğini işaret etmektedir. Bu amino asitlerden treoninin *P. turionellae* üzerindeki etkileri, çalışılan diğer böcekler ile karşılaştırıldığında böceğin bu amino asitin değişik oranlarına karşı fazla duygun olmayan *O. surinamensis*’e (Davis, 1972) benzediğini ortaya çıkartmaktadır.

Spesifik olarak endoparazitik böcek türlerinde konakçı plazmasındaki protein ve amino asitlerin yaygın olarak kantitatif ve kalitatif değişiklikler göstermesi (Thompson & Lee, 1994; Richards & Edwards, 1999), bu farklılıkların amino asitlerde yüksek bir değişkenlik, beslenme farklılıkları ve böceklerin gelişim evresi ile ilişkili olup olmadığının belirsiz oluşu (Chang, 2004) da besinsel dengenin kurulmasının zor olduğunu göstermekle birlikte, L-arjinin, L-histidin, L-izölösün, L-lösün, L-lyzin, L-methinonin, L-fenilalanin, L-triptofan, L-threonin ve L-

valinin tüm böcekler için gerekli temel amino asitler olduğu (Thompson, 1976a; Chang, 2004) bulunmuştur.

Sonuç olarak *P.turionellae* larvalarının normal gelişmelerini ve gerekli vücut proteinlerini daha kısa bir sürede sentezleyebilmelerini sağlamak amacıyla böceği larval evreden itibaren beslemek için kullanılacak kimyasal yapısı belirli sentetik besinlerde, elde ettiğimiz bulguların kullanılmasının yararlı olacağı ve böcek tarafından sentezlenen protein miktarının ele alınmasının bu tür çalışmalarda verilerin değerlendirilmesinde iyi bir kriter olacağı görüşündeyiz.

## TEŞEKKÜR

Sunulan çalışmanın her aşamasında değerli katkılarını esirgemeyen merhum Prof. Dr. Şevki Yazgan Hocam’ı minnetle anıyorum

## KAYNAKLAR

- Arthur, A.P., Hegdekar, B.M. & Batsch, W.W. (1972).** A chemically defined synthetic medium that induces oviposition in the parasite *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidea). *Canada Entomology*, **104**, 1251-1258.
- Assar, A.A., Abo El-Mahasen, M.M., Khalil, M.E. & Mahmoud, S.H. (2010).** Biochemical effects of some insect growth regulators on the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, **2**, 33-44.
- Chang, C.L. (2004).** Effect of amino acids on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, **97**, 529-535.
- Chen, C.P. (1985).** Amino Acid and Protein Metabolism. In: Kerkut, G. A., Gilbert, L. I. (Eds.). *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, 177-199.
- Çelik, S. (1984).** *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae)’nın kantitatif ve kantitatif Amino asit ihtiyaçları. *Doğa Bilim Dergisi*, **A2**, **8(3)**, 321-329.
- Dadd, R.H. (1985).** Nutrition: Organisms. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Ed. by Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I., **8**, 313-390. Pergamon Press, Oxford.
- Davis, G.R.F. (1961a).** Sulfur-containing amino acids in the nutrition of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae). *Journal Nutrition*, **75**, 275-279.

- Davis, G.R.F. (1972).** Quantitative requirements of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* for dietary glycine and L-threonine. *Journal of Insect Physiology*, **18**, 1287-1294.
- Davis, G.R.F. (1973).** Quantitative requirements of the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* for dietary L-isoleucine and L-valine. *Journal of Insect Physiology*, **19**, 1657-1661.
- Emre, İ. (1988).** Meridik bir besinin *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae) ergin dişilerinin yumurta verimine etkisi. *Doğa Turk Biyoloji Dergisi*, **12**(2), 101-105.
- Emre, İ. & Yazgan, Ş. (1990).** Besin bileşenlerinin *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin üremesi üzerine etkileri. *Doğa Turk Journal of Biology*, **14**, 96-104.
- Fisher, R.C. & Ganesalingam, V.K. (1970).** Changes in the composition of host hemolymph after attack by an insect parasitoid. *Nature*, **227**, 191-192.
- Plummer, D.T. (1971).** *An Introduction of Practical Biochemistry*, McGraw-Hill Book Comp., pp 369.
- Richards, E.H. & Edwards, J.P. (1999).** Parasitism of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera, Noctuidae) by the ectoparasitoid wasp *Eulophus pennicornis*, results in the appearance of a 27 kDa parasitism-specific protein in host plasma. *Insect Biochemistry & molecular Biology*, **29**, 557-569.
- Roe, H.J., Batley, J.M., Gray, R.R. & Robinson, J.N. (1961).** Complete removal of glycogen from tissues by extraction with cold trichloroacetic acid solution. *Journal of Biological Chemistry*, **236**, 1224-1246.
- Sulanç, M., Emre, İ. & Yazgan, Ş. (1992).** İnorganik tuzların erkek *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişmesine ve sentezledikleri protein miktarına kalitatif ve kantitatif etkileri. *Doğa Turk Journal of Zoology*, **16**, 92-100.
- Sulanç, M. & Yazgan, Ş. (1990).** Aspartik asit, Glutamik asit ve amidlerinin (Asparajin, Glutamin) *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae) larvalarının gelişme ve sentezlenen protein miktarına etkileri. *Ç.Ü.Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **4**(2), 97-107.
- Sulanç, M. & Emre, İ. (2000).** Effects of B group vitamins and choline chloride on the development and protein synthesis in the male larvae of *Pimpla turionellae* L (Hym., Ichneumonidae). *Journal of Applied Entomology*, **124**, 151-153.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J. (1995).** *Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research*, 3<sup>rd</sup> edition. W.H. Freeman and Co., New York, p. 887.
- Thompson, S.N. (1976a).** The amino acid requirements for larval development of the hymenopterous parasitoid *Exeristes roborator* Fabricius (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*, **53A**, 211-213.
- Thompson, S.N. (1976b).** Effects of dietary amino acid level and nutritional balance on larval survival and development of the parasite *Exeristes roborator*. *Annals of the Entomological Society of America*, **69**, 835-838.
- Thompson, S.N. (1986).** Nutrition and in vitro culture of insect parasitoids. *Annual Review of Entomology*, **31**, 197-219.
- Thompson, S.N. & Lee, R.W.K. (1994).** Glucose metabolism in an insect, *Manduca sexta*, and effects of parasitism. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1200**, 322-330.
- Yanikoğlu, A. (1985).** Bazı karbonhidratların *Pimpla turionellae* L (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin glikojen sentezine etkileri. *C.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, **3**, 205-210.
- Yazgan, Ş. (1972).** A chemically defined synthetic diet and nutritional requirement of the endoparasitoid *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera). *Journal of Insect Physiology*, **18**, 2123-2141.
- Yazgan, Ş. (1981).** A meridic diet and quantitative effect of tween 80, fatty acid mixtures and inorganic salts on development and survival of the endoparasitoid *Pimpla turionellae* L., Zeitschrift für angewandte Entomologie, **91**, 433-441.
- Yazgan, Ş. (1982).** Effects of dietary fatty acids on development and survival of *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Communications de la Faculte des Sciences de L'Universite d'Ankara, Serie C*, **26**, 1-8.



## Artvin-Genya Dağı Yöresi Doğu Ladini (*Picea orientalis* Lipsky) Ormanlarında Topraküstü Biyokütlenin Belirlenmesi İçin Denklemler Geliştirilmesi

Mimar Sinan ÖZKAYA\*

Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Artvin, Türkiye

Geliş Tarihi: 27 Kasım 2020

Kabul Tarihi: 19 şubat 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Özkaya, M.S. (2021). Artvin-Genya Dağı Yöresi Doğu Ladini (*Picea orientalis* Lipsky) Ormanlarında Topraküstü Biyokütlenin Belirlenmesi İçin Denklemler Geliştirilmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 99-105.

How to cite: Özkaya, M.S. (2021). Development of Equations to Determine Aboveground Biomass of Oriental Spruce (*Picea orientalis* Lipsky) Forests in Artvin-Genya Mountain Region. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 99-105.

 <https://orcid.org/0000-0003-2146-3867>

**\*Sorumlu yazarın:**

Mimar Sinan ÖZKAYA  
Artvin Orman Bölge Müdürlüğü, Artvin,  
Türkiye.  
✉: [mimarsinan08@hotmail.com](mailto:mimarsinan08@hotmail.com)

**Öz:** Bu çalışmada, Artvin ili Merkez İlçesi Genya Dağı Ceravent mevkiinde 1500 m rakımda, normal kapalıdaki saf Doğu Ladini meşçerelerinde toprak üstü biyokütle miktarı belirlenmiştir. Tespit edilen normal kapalıdaki saf Doğu Ladini meşçeresinde, her çap sınıfını temsil edecek şekilde farklı çaplarda, canlı, tepesi sağlam, tek gövdeli, sağlıklı ve dal budanmasını tamamlamış 30 adet deneme ağacı tespit edilmiştir. Deneme alanında tespit edilen bireylerin göğüs çapları belirlendikten sonra topraktan 20 cm yukarıdan kesilmişlerdir. Bütün bireylerin boyu ölçülerek, ibrelili ve ibresiz dallar gövdeden ayrılmıştır. Gövde dipten tepeye doğru, 5 m lik kesitlere ayrılmış ve yaş ağırlıkları belirlenmiştir. Daha sonra her bir gövde kesitinin kalın uçundan 5 cm kalınlığında örnek diskler alınmıştır. Dal ve ibrelerin yaş ağırlığı birlikte belirlenmiş, her bir birey için tartılan ibrelili dallardan deneme ağacını temsil edecek şekilde alt, orta ve üst bölümlerden yeteri kadar örnek alınmıştır. Her bir gövde kesitinden alınan örnek disklerle ibrelili dal örnekleri polietilen torbalara konularak laboratuvara getirilmiştir. Kesitlerin 70 °C lik fırındaki nem kayıp oranlarından yararlanılarak her bir ağacın kuru ağırlığı belirlenmiştir. Elde edilen verilere göre, incelenen tek ağaç bileşenleri için çap, toprak üstü biyokütledeki varyasyonu, boya göre daha iyi tanımlamaktadır. Çapa dayalı denklemlerin R<sup>2</sup> değerleri (en yüksek % 95) boya dayalı denklemlerden (en yüksek % 85) daha büyüktür.

**Anahtar kelimeler:** Artvin, boy, çap, doğu ladini, toprak üstü biyokütle.

## Development of Equations to Determine Aboveground Biomass of Oriental Spruce (*Picea orientalis* Lipsky) Forests in Artvin-Genya Mountain Region

**Abstract:** In this study, aboveground biomass of pure Oriental spruce stands with moderate crown closure located at 1500 m altitude in the Ceravent region of the Genya Mountain in Artvin Province was determined. 30 sampling trees, alive, robust crown, single-trunk, healthy and branch pruned, from different diameters to represent each diameter class were determined in the pure Oriental spruce stand. Then, they were cut 20 cm above the soil. The height of all the individuals was measured. All the branches and twigs with or without needle were removed. The stems were cut from the bottom to the top by 5 m sections and the wet weights were measured. Sample discs with 5 cm thick were then taken from the thick end of the each section. Wet weights of the branches and needles were determined together. Sample discs taken from each trunk section and branch samples with needle were transported to the laboratory with polyethylene bags. Dry weight of each tree was determined by using the moisture loss rates of the sections at 70°C. According to the results, diameter component related to variation in above ground biomass more than height component for the individuals. The R<sup>2</sup> values (the highest was 95%) of the diameter-based equations were higher than the ones of height-based equations (the highest was 85%).

**\*Corresponding author's:**

Mimar Sinan ÖZKAYA  
Artvin Regional Directorate of Forestry,  
Artvin, Turkey.  
✉: [mimarsinan08@hotmail.com](mailto:mimarsinan08@hotmail.com)

**Keywords:** Artvin, height, diameter, oriental spruce, above ground biomass.

## GİRİŞ

Enerji, kaynakları bakımından sınıflandırıldığında, yenilenebilir ve yenilenemeyen olmak üzere iki ana başlığa ayrılmaktadır. Yenilenemeyen enerji kaynaklarının günden güne azalması ve bunun yanı sıra kullanımının doğa açısından başta küresel ısınma ve sera gazı etkisi gibi bazı olumsuzluklar meydana getirmesi; gözleri yenilenebilir enerji kaynaklarına çevirmiştir (Başçetinçelik ve ark., 2004). Günümüzde yenilenebilir enerji kaynağı olarak önerilen kaynaklardan birisi de orman biyokütlesidir (Alemdağ, 1981). Orman biyokütlesi, orman ürünü olarak ormanın şimdiki kapasitesini ve büyümesini belirten uzun süreli işletmeciliğin sağlanması için bilinmesi gereken bir terimdir (Alemdağ, 1980).

Küresel çevre sorunlarının en önemlilerinden bir tanesi de küresel ısınmadır (Carnesale ve Chameides, 2011). İnsanoğlunun fosil yakıtları kullanması ve ağaçsızlaşma gibi uygulamaları sonucunda atmosferde üretilen sera gazı konsantrasyonlarının artması ile bilim insanları arasında ciddi bir fikir birliği oluşmuştur (Ravindranath ve Ostwald, 2008). Kirlenmeler ve diğer abiyotik etkenler sonucu atmosferik kimyanın, hava kalitesinin ve iklimin giderek orman yetişmesine daha elverişsiz duruma gelmesinin yanı sıra böcek, mantar ve diğer biyotik faktörler, sınırlayıcı meteorolojik etkenler ormanların zaman zaman çok büyük boyutlarda yıkıma uğramasına neden olmuştur (Köse ve ark., 2002). Ülkemizde yenilenebilir enerji kaynaklarının kullanımı hala istenen düzeye ulaşmamıştır. Yenilenebilir enerji kaynaklarının genel enerji üretiminin payı, yenilenebilir enerji kaynakları açısından büyük bir potansiyele sahip olmasına rağmen ülkemiz açısından düşük miktardadır. Fakat ülkemizin biyokütle enerji potansiyeli yüksektir. Bununla beraber, bu potansiyelin kullanımı ve ticareti neredeyse yoktur. Bu durumun sebepleri arasında biyokütle yakıtları ile ilgili yetersiz çalışmalar, odun hammaddelerinden üretilen biyoyakıtlar için bir pazar eksikliği, mevzuat eksikliği ve özel sektör yatırımlarını teşvik etmemek gelmektedir (Toksoy vd., 2020).

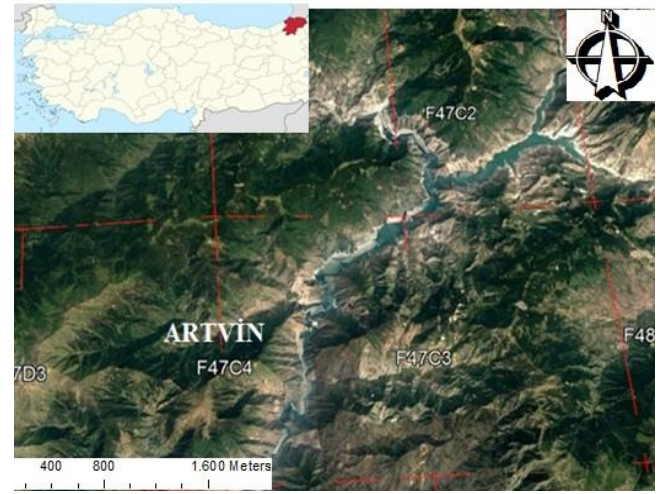
Ormanların karbon stokları ve karbon depolama kapasitelerinin tespit edilmesinde biyokütle araştırmaları temel değerleri ortaya koymaktadır. (Sun vd., 1976). Biyokütlenin toprak üstü ve toprak altı olmak üzere iki temel bileşeni bulunmaktadır. Toprak üstü ve toprak altı biyokütle tarım, orman ve çayır alanlarından faydalanmanın planlanmasında dikkat edilmesi gereken önemli parametrelerdir. Toprak üstü biyokütle meşcere yaşı ve sıklığı, yağış, sıcaklık, enlem derecesi, fizyografik etmenler (yükseltili, eğim, bakı, arazi yapısı) ve toprak gibi faktörlerden etkilenirken, toprak altı biyokütle ise bitki türü (yapraklı-ibrelili, çalı, çayır vb.), bitki yaşı, toprak nemi, topraktaki bitki besin elementleri ve toprak tekstürü gibi

faktörlerden etkilenmektedir (Cairns vd., 1997; Çakıl,2008).

Bu çalışmanın amacı doğu ladini ağaç türü için çap ve boy parametrelerine bağlı olarak toprak üstü biyokütlenin belirlenmesidir.

## MATERYAL VE METOT

**Materyal:** Araştırma alanı, Doğu Karadeniz Bölgesinde Artvin İli sınırları içerisinde; 41° 09' 11'' kuzey enlemleri ile 41° 51' 30'' doğu boylamı üzerindedir (Şekil 1). Ortalama yükseltisi 1505 m, ortalama eğimi % 30'dur. Araştırma alanı kuzeydoğu bakıda ve yukarı orta yamaçtadır.



Şekil 1. Araştırma alanının Türkiye haritasındaki konumu ve Google earth görüntüsü.

Figure 1. Map of the study area and Google earth view.

Bölgenin karakter ana ağaç türü *Picea orientalis* bazen saf, bazen de *Fagus orientalis* Lipsky., *Abies nordmanniana* (Stev) Spach, *Pinus silvestris* L., *Alnus barbata* C.A.Mey. ve benzeri türlerle karışık ormanlar meydana getirir. Orman amenajman planlarına göre 444.933 ha alanda yayılış gösteren Doğu Ladini alanın % 31,6'sında saf olarak bulunmaktadır. Bölgede % 32,7 ile ladin+kayın en çok rastlanan bir karışım şeklidir (Akalp, 1978; Kayacık, 1960).

**Metot:** Biyokütle tablolarının düzenlenmesi için, çeşitli çap kademelerinde, normal kapalılıkta saf Ladin meşçereleri seçilmiştir. Bu amaçla Artvin Orman Bölge Müdürlüğü Artvin İşletme Müdürlüğü Artvin İşletme Şefliği 49, 50, 79, 80 ve 84 nolu bölmelerde Lcd3 meşçere tipinden formu ve tepe çatısı düzgün bireylerden 30 adet deneme ağacı alınmıştır. Bu alanın araştırma alanı olarak seçilmesinin nedeni, Ladinin normal kapalılıkta saf meşçere oluşturması, aynı meşçere içinde farklı çap gruplarına ait bireylerin bulunması ve bakım müdahaleleri

dışında böcek, fırtına vs gibi diğer etkenlerden dolayı herhangi bir müdahale görmemiş olmasıdır.

Tespit edilen deneme ağaçları göğüs çapları ölçüldükten sonra topraktan 20 cm yükseklikten kesilmiştir. Kesilen ağaçların boyu ölçülmüş, dalları gövdeden ayrılmış ve gövde kalın ucundan itibaren 5 m'lik seksiyonlara bölünmüş, her bir kesite ait tomruk ayrı ayrı tartılarak yaş ağırlığı tespit edilmiştir. Tomrukların kalın ucundan 5 cm çapında örnek kesitler alınmış ve yaş olarak ağırlığı tespit edilmiştir. Daha sonra gövdeden ayrılan tüm dallar ibreleriyle birlikte tespit edilmiştir. Her birey için tartılan tüm ibreli dallardan deneme ağacını temsil edecek şekilde alt, orta ve üst bölümlerinden yeteri kadar örnek alınmış ve bunlarında yaş ağırlığı tespit edilmiştir. Bunlarda dal ve ibre olarak ayrılmış ve yaş ağırlıkları tespit edilmiştir. Ardından gövde odunu, dal ve ibre örneklerinin tam kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

**İstatistiksel Analiz:** Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS paket istatistik programı kullanılmıştır. Çap ve boy bağımsız değişkenlerinin toprak üstü biyokütle ile olan ilişkilerinin değerlendirilmesinde regresyon analizi yöntemi uygulanmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Araştırma sahasındaki deneme ağaçlarında yapılan çalışmalarda biyokütle değerleri çap ve boy gibi bağımsız değişkenler olarak ayrı ayrı incelenmiş, bağımlı değişken olarak seçilen tüm ağırlık, gövde ağırlığı, dal ve ibre ağırlıkları da yaş ve kuru ağırlıklar olarak belirlenmiştir. Biyokütle değerleri kuru ve yaş ağırlıklar olarak farklı değerler ve farklı değişimlerle temsil edileceğinden hareketle, çap ve boyya göre yaş ve kuru ağırlıklar ayrı ayrı ele alınmıştır. Bu değerlerden altı değişik fonksiyona göre bağımsız değişkenler ile toprak üstü biyokütle arasındaki ilişkiyi en iyi yansıtan denklemler ortaya konulmuştur.

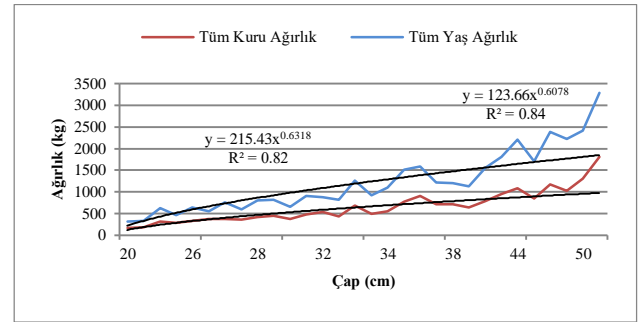
Elde edilen verilere göre, Doğu Ladininin toprak üstü biyokütle değerleri ile değişik fonksiyonlar kullanılarak, varyasyonu en iyi açıklayan denklemler tespit edilmiştir.

Dal ve ibre örneklerinin ortalama nem oranları sırasıyla % 51,62 ve % 44,9 olarak bulunmuştur. Tüm yaş ağırlığın ortalama olarak % 87,6'sını gövde odunu, % 7,17'sini dal ve % 5,26'sını ise ibreler oluşturmaktadır. Tüm kuru gövde ağırlığının ortalama % 87,8'ini gövde odunu, %7,40'ını dal ve % 4,77'sini ise ibreler oluşturmaktadır.

Deneme ağaçlarında tespit edilen en yüksek nem miktarı ibre örneklerinde, en düşük nem miktarı ise en alt gövde odunu seksiyonunda belirlenmiştir. Gövde odunundaki nem oranı gövdeden tepeye doğru yaklaştıkça artmaktadır. Bunun nedeninin gövde odununun alt

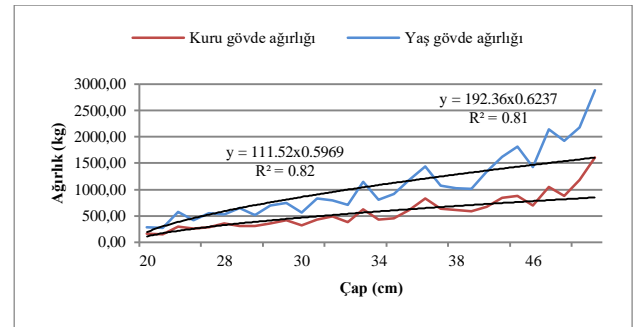
kısımlarının destek görevi görmesi ve oran olarak daha fazla yaşlı odun içermesinin olabileceği sanılmaktadır. Ayrıca yağın yağış sularının gövdenin tepe kısmına ulaşması daha kolay olduğundan üst seksiyonlarda odunun daha fazla su emmesine olanak tanınmasından da kaynaklanıyor olabileceği sanılmaktadır. Aynı şekilde kabuk nem oranları da gövdeden tepeye yaklaştıkça artma eğilimi göstermektedir.

**Ladin tek ağaç bileşenlerinin yaş/kuru ağırlıkları ile çap arasındaki ilişkiler:** Ladin tek ağaç bileşenlerinin yaş/kuru ağırlıkları ile çap arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Power (üs) fonksiyonu tarafından sağlanmaktadır (Tablo 1). Fonksiyonların anlamlılık düzeyi  $p < 0,001$  olup, Ladin tek ağaç bileşenleri ve çap değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki tespit edilmiştir (Şekil 2, 3, 4, 5).



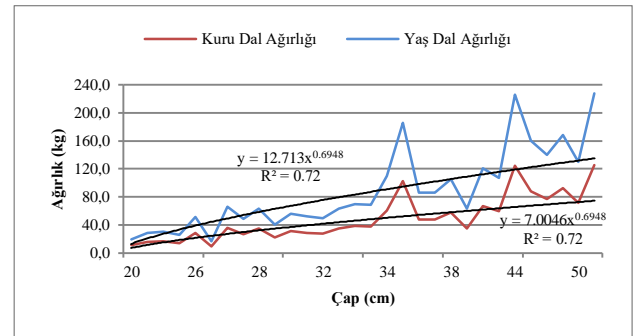
Şekil 2. Tüm yaş ve tüm kuru ağırlığın çapa göre değişimi.

Figure 2. Change in dry and wet weights according to diameter.



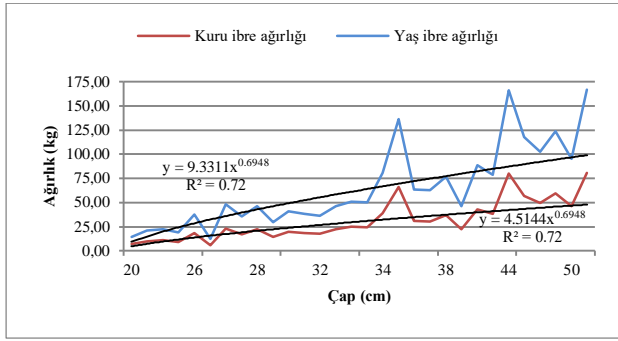
Şekil 3. Yaş gövde ve kuru gövde ağırlığının çapa göre değişimi.

Figure 3. Change in wet and dry stem weights according to diameter.



Şekil 4. Yaş dal ve kuru dal ağırlığının çapa göre değişimi.

Figure 4. Change in wet and dry branch weights according to diameter.



Şekil 5. Yaş ibre ve kuru ibre ağırlığının çapa göre değişimi.

Figure 5. Change in wet and dry needle weights according to diameter.

Tablo 1. Ladin tek ağaç bileşenlerinin yaş/kuru ağırlıkları ile göğüs çapı arasındaki ilişkilerin katsayı ve istatistikleri.

Table 1. Coefficients and statistics of relationships between single tree components of spruce dry and wet weights and diameter at breast height.

Bağımlı değişken	Mtd	R <sup>2</sup>	S. Der.	F	p	bo	b1
Tüm yaş ağırlığı	pow	0,94	28	467,98	,000	0,3853	2,2389
Yaş gövde ağırlığı	pow	0,94	28	489,84	,000	,352	2,22
Yaş dal ağırlığı	pow	0,75	28	85,85	,000	,0180	23,489
Yaş ibre ağırlığı	pow	0,75	28	85,97	,000	,0132	23,496
Kuru gövde ağırlığı	pow	0,93	28	428,75	,000	,2852	21,129
Kuru dal ağırlığı	pow	0,75	28	85,74	,000	,0099	23,493
Kuru ibre ağırlığı	pow	0,75	28	85,93	,000	,0064	23,493

Çap toprak üstü biyokütledeki varyasyonu boya göre daha iyi tanımlamaktadır. Yani çapa dayalı denklemlerin R<sup>2</sup> değerleri boya dayalı denklemlerden daha büyük olup dolayısıyla daha iyi açıklamaktadır. Çap ile yaş ve kuru biyokütle değerlerini en iyi açıklayan denklem Power (Üs) fonksiyonuna ait denklemlerdir. Çap ile tüm yaş ağırlık, yaş gövde ağırlığı, tüm kuru ağırlık ve kuru gövde ağırlığına ait R<sup>2</sup> değerleri 0,94 düzeyinde sonuç vermektedir.

Pastorella ve Paletto, (2014) ağaçlarda büyüme ve biyokütle arasındaki ilişkiyi analiz etmek amacıyla yaptıkları çalışmada toprak üstü biyokütledeki R<sup>2</sup> değerinin 0,9'un üzerinde olduğu sonucuna varmışlardır.

Yaş ağırlıklar ile çap arasındaki varyasyonu en iyi açıklayan fonksiyon Power (Üs) fonksiyonudur. Dört değişik bağımlı değişkene göre en yüksek R<sup>2</sup> değeri bu fonksiyonda tespit edilmiştir. Bu değişkenler ile çap arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem tüm yaş ağırlık ile yaş gövde ağırlığına ait denklemlerdir.

Yaş dal ağırlığı ve yaş ibre ağırlığı ile çap arasındaki denklemlerin R<sup>2</sup> değerlerinin tüm yaş ağırlıkla ve yaş gövde ağırlığı ile çap arasındaki denklemlerin R<sup>2</sup> değerlerine oranla küçük çıkmasının nedeni, dal ve ibre ağırlıklarının tepe yapısına ve kapalılık durumuna göre tüm yaş ağırlık ve yaş gövde ağırlığına kıyasla ışık, kapalılık ve sıklık gibi çevresel faktörlerden daha fazla etkilenecek değişiklik göstermesidir.

Pajti'k vd., (2008)'nin yaptıkları çalışmada *Picea abies* meşçeresinin toplam biyokütlesinin yaklaşık 1.0 Mg ha<sup>-1</sup>'den 9.5 yılda 44.3 Mg ha<sup>-1</sup>'e yükseldiği görülmüştür. Kök ve dal biyokütle oranının yaş ile birlikte

arttığı, ibrelerin oranının oldukça sabit olduğu ve kök biyokütlesinin oranının meşçere yaşlandıkça azaldığı bulunmuştur.

Kuru ağırlıklar ile çap arasındaki varyasyonu en iyi açıklayan fonksiyon yaş ağırlık ve çap arasındaki varyasyonu açıklayan fonksiyonda olduğu gibi Power (üs) fonksiyonudur. Dört farklı bağımlı değişkene göre en yüksek R<sup>2</sup> değeri yine bu fonksiyonda tespit edilmiştir. Bu değişkenler ile çap arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem tüm kuru ağırlık ile kuru gövde ağırlığına ait denklemlerdir.

Tüm Kuru Ağırlık (Y)=0,2973(d<sub>1,3</sub>)<sup>2,1381</sup>, R<sup>2</sup>=0,94, P<0,001  
Kuru Gövde Ağırlığı (Y)=0,2852(d<sub>1,3</sub>)<sup>2,1129</sup>, R<sup>2</sup>=0,94, P<0,001.

Benzer R<sup>2</sup> değerleri Laar ve Lill, (1978) tarafından Güney Amerika'da 29 yaşındaki *Pinus radiata* meşçeresinde bulunmuştur. Yapılan çalışmada fırın kurusu gövde ağırlığı ile çap arasındaki R<sup>2</sup> değeri 0,95; fırın kurusu tüm ağırlık ile çap arasındaki R<sup>2</sup> değeri 0,96 düzeyinde olup, araştırma alanına ait Doğu Ladininde bulunan değerlere çok yakın değerler tespit edilmiştir. Ağaç türü, yetiştirme ortamı farklılığı ve aynı yaşlı meşçereden alınan verilerden dolayı Doğu Ladini için bulduğumuz ilişki *Pinus radiata* için bulunan ilişkiye çok azda olsa düşük çıkmıştır.

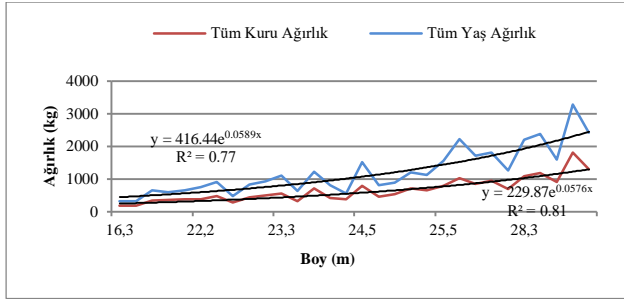
Dal ve ibre ağırlığına ait denklemlerin R<sup>2</sup> değerleri tüm kuru ağırlık ve kuru gövde ağırlığına oranla daha düşüktür.

Kuru Dal Ağırlığı (Y)=0,0099(d<sub>1,3</sub>)<sup>2,3505</sup> R<sup>2</sup>=0,75, P<0,001  
Kuru İbre Ağırlığı (Y)=0,0064(d<sub>1,3</sub>)<sup>2,3493</sup> R<sup>2</sup>=0,75, P<0,001

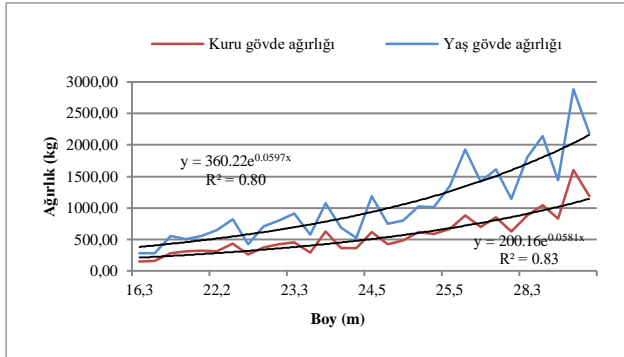
Kuru dal ağırlığı ile kuru ibre ağırlığının varyasyonunun tüm yaş ağırlıkla yaş gövde ağırlığına oranla daha düşük çıkmasının nedeni, dal ve ibre ağırlıklarının tepe yapısına ve kapalılık durumuna göre değişiklik göstermesidir. Larr ve Liil, (1978)'in çalışmalarında fırın kurusu taç ağırlığı ile çap arasındaki R<sup>2</sup> değeri 0,70 düzeyindedir. Bu ilişki Doğu Ladinine oranla çok daha düşüktür. Bunun nedeninin ağaç türlerinin farklı ışık isteği olması ve dolayısıyla farklı taç yapısı oluşturmaktan kaynaklandığı sanılmaktadır. Benzer şekilde, bu düşük R<sup>2</sup> değeri Durkaya, (1998), İkinci, (2000), Ünsal, (2007)'in yaptıkları biyokütle çalışmalarında da görülmektedir. Bu durum beklenen bir sonuçtur çünkü ibre ağırlığı ile çap arasındaki ilişki düşüktür.

**Ladin tek ağaç bileşenlerinin yaş/kuru ağırlıkları ile boy arasındaki ilişkiler:** Ladin tüm yaş ağırlık ve tüm kuru ağırlık ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem üstel fonksiyon, kuru gövde ağırlığı ve yaş gövde ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem power fonksiyon, yaş/kuru dal ağırlığı ve yaş/kuru ibre ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem polinom fonksiyon tarafından sağlanmaktadır (Tablo 2). Fonksiyonların anlamlılık

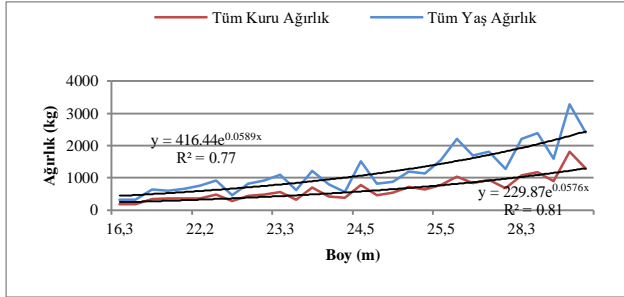
düzeyi  $p < 0,001$  olup, Ladin tek ağaç bileşenleri ve boy değerleri arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki tespit edilmiştir (Şekil 6, 7, 8, 9).



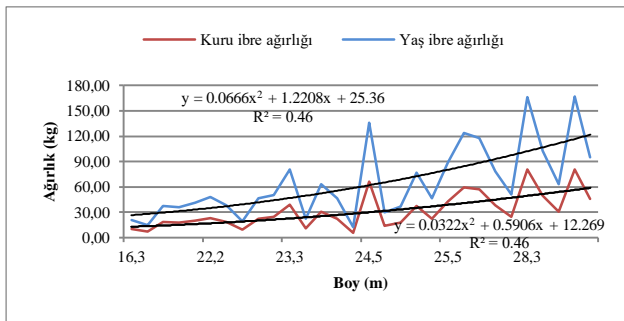
**Şekil 6:** Tüm yaş ağırlık ve tüm kuru ağırlığın boya göre değişimi.  
**Figure 6:** Change in whole wet and dry weights according to tree height.



**Şekil 7:** Yaş gövde ve kuru gövde ağırlığın boya göre değişimi.  
**Figure 7:** Change in wet and dry stem weights according to tree height.



**Şekil 8.** Yaş dal ve kuru dal ağırlığın boya göre değişimi.  
**Figure 8.** Change in wet and dry branch weights according to tree height.



**Şekil 9.** Yaş ibre ve kuru ibre ağırlığın boya göre değişimi.  
**Figure 9.** Change in wet and dry needle weights according to tree height.

**Tablo 2.** Ladin tek ağaç bileşenlerinin yaş/kuru ağırlıkları ile boy arasındaki ilişkilerin katsayı ve istatistikleri.

**Table 2.** Coefficients and statistics of relationships between single tree components of spruce dry and wet weights and tree height.

Bağımlı değişken	Mid	R <sup>2</sup>	S.Der	F	p	bo	bl	b2
Tüm yaş ağırlık	üstel	0,77	28	98,36	0,000	11,6349	0,183	
Yaş gövde ağırlığı	üstel	0,81	28	120,27	,000	9,567	0,186	
Yaş dal ağırlığı	polinom	,469	27	11,92	,000	273,41	-30,504	,9274
Yaş ibre ağırlığı	polinom	,469	27	11,91	,000	199,987	-22,328	,6794
Kuru gövde ağırlığı	üstel	,848	28	156,35	,000	58,370	,1816	
Kuru dal ağırlığı	polinom	,469	27	11,91	,000	150,80	-16,819	,5112
Kuru ibre ağırlığı	polinom	,450	28	22,93	,000	,4619	,1641	

Boy biyokütledeki varyasyonu anlamlı ve kabul edilebilir şekilde tanımlamasına rağmen R<sup>2</sup> değerleri, çap ile biyokütle arasındaki R<sup>2</sup> değerlerinden daha düşük çıkmaktadır. Bunun nedeni aynı meşçerede mevcut aynı çaptaki bireylerin ağırlık olarak birbirine yakın olmasına rağmen buldukları ortam itibarıyla ışık ihtiyaçlarına ve meşçerenin kapalılık durumuna paralel olarak daha fazla veya daha az boylanmalarından kaynaklanmaktadır.

Tek ağaç bileşenlerinin yaş ağırlıkları ile çap arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan fonksiyon tüm yaş ağırlık ile yaş gövde ağırlığı için Exponential (Üstel) fonksiyonu olmasına rağmen, yaş dal ağırlığı ile yaş ibre ağırlığı için Quadratic (Polinom) fonksiyonudur. Dört değişik bağımlı değişkene göre en yüksek R<sup>2</sup> değerleri bu fonksiyonlara göre tespit edilmiştir.

Tüm yaş ağırlıkla boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Exponential (Üstel) fonksiyonuna ait denklemdir. Bu denklem;

$$\text{Tüm Yaş Ağırlık } Y = 11,635(e)^{0,1838d_{1,3}}, R^2 = 0,78, P < 0,001 \text{ dir.}$$

Ingerslev, (1999) yaptığı çalışmada 59 yaşındaki *Pinus pinea* meşçeresindeki topraküstü biyokütle çalışmasında; biyokütle ile boy arasındaki ilişkinin R<sup>2</sup> değerini 0.70 olarak bulmuştur. Grote, (2002) aynı çalışmayı yaparak toprak üstü biyokütle miktarının R<sup>2</sup> değerleri 0.5 ila 0.87 arasında tespit etmiştir. Eid vd., (2016) yapmış oldukları çalışmada *Pinus sp.*'a ait toplam topraküstü biyokütle miktarının R<sup>2</sup> değerini 0.97 ila 0.99 arasında tespit etmişlerdir.

Tüm yaş ağırlık içerisinde dal ve ibre ağırlıkları da katıldığından, dal ve ibre ağırlığındaki varyasyonun etkisiyle tüm yaş ağırlık ile çap arasındaki denklemin R<sup>2</sup> değeri, çap ile yaş gövde ağırlığı arasındaki denklemin R<sup>2</sup> değerinden daha düşüktür.

Yaş gövde ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Exponential (Üstel) fonksiyonuna ait denklemdir. Bu denkleme ait R<sup>2</sup> değeri bağımlı değişkenlerin yaş ağırlıkları ile boy arasındaki ilişkilere ait R<sup>2</sup> değerlerinin en yüksek olanıdır. Bunun nedeni de dal ve ibre ağırlıklarında varyasyonun gövde odunundaki varyasyona göre fazla olmasıdır. Yaş Gövde Ağırlığı (Y) = 9,5678(e)<sup>0,1864d<sub>1,3</sub></sup>, R<sup>2</sup> = 0,81, P < 0,001 dir.

Yaş dal ağırlığı ve yaş ibre ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Quadratic

(Polinom)fonksiyondur. Dal ve ibre ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi gösteren denklemlerin  $R^2$  değerleri tüm yaş ağırlık ve yaş gövde ağırlığı ile boy arasındaki denklemlerin  $R^2$  değerlerine oranla çok daha düşüktür. Işık ihtiyacına paralel olarak aynı çaptaki bireylerin farklı boylanması, dolayısıyla dal ve ibre ağırlıklarında tepe yapısına ve kapalılık durumuna göre farklılıklar göstermesi  $R^2$  değerlerinin daha düşük çıkmasına sebep olmuştur. Bu denklemler:

$$\text{Yaş Dal Ağırlığı } Y=0,9274(d_{1,3})^2+30,504(d_{1,3})+273,42, \\ R^2=0,47, P<0,001$$

$$\text{Yaş İbre Ağırlığı } Y=0,6794(d_{1,3})^2-22,328(d_{1,3})+199,99, \\ R^2=0,47, P<0,001 \text{ dir.}$$

Tek ağaç bileşenlerinin kuru ağırlıklar ile boy arasındaki varyasyonu en iyi açıklayan fonksiyon, tüm kuru ağırlık ile kuru gövde ağırlığı için Exponential (Üstel) fonksiyonu olmasına rağmen kuru dal ağırlığı ile kuru ibre ağırlığı için Quadratic (Polinom) fonksiyonudur. Dört değişik bağımlı değişkene göre değerlendirilen fonksiyonlar arasında en yüksek  $R^2$  değerleri bu fonksiyonlara göre tespit edilmiştir.

Tüm kuru ağırlıkla boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Exponential (Üstel) fonksiyonuna ait denklemdir. Bu;

$$\text{Tüm Yaş Ağırlık } Y= 6,9464(e)^{0,1798 d_{1,3}}, R^2=0,82, P<0,001$$

olarak tespit edilmiştir. Tüm kuru ağırlık içerisinde dal ve ibre ağırlıkları da katıldığından, dal ve ibre ağırlığındaki farklılık bu bileşendeki  $R^2$  değerinin kuru gövde ağırlığındaki değere oranla daha düşük çıkmasına neden olmuştur.

Kuru gövde ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Exponential (Üstel) fonksiyonuna ait denklemdir. Bu denkleme ait  $R^2$  değeri bağımlı değişkenlerin yaş ağırlıkları ile boy arasındaki en yüksek değerdir. Bunun nedeni gövde ağırlığının dal ve ibre ağırlıklarındaki varyasyonu içermemesidir. Bu denklem:

$$\text{Kuru Gövde Ağırlığı } Y= 5,8371 (e)^{0,1816 d_{1,3}}, R^2 =0,85, \\ P<0,001 \text{ dir.}$$

Yaş dal ağırlığı ve yaş ibre ağırlığı ile boy arasındaki ilişkiyi en iyi açıklayan denklem Quadratic (Polinom)fonksiyonudur. Dal ve ibre ağırlığına ait denklemlerin  $R^2$  değerleri tüm kuru ağırlık ve kuru gövde ağırlığına oranla çok daha düşüktür. Işık ihtiyacına paralel olarak aynı çaptaki bireylerin farklı boylanması, dolayısıyla dal ve ibre ağırlıklarındaki tepe yapısına ve kapalılık durumuna göre farklılıklar göstermesi  $R^2$  değerlerinin daha düşük çıkmasına sebep olmuştur.

$$\text{Kuru Dal Ağırlığı } Y=0,5147(d_{1,3})^2 +16,968(d_{1,3}) +152,37, \\ R^2=0,47, P<0,001$$

$$\text{Kuru İbre Ağırlığı } Y=0,329(d_{1,3})^2 -10,816(d_{1,3})+96,906, \\ R^2=0,47, P<0,001 \text{ dir.}$$

## SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada, zaman ve para kaybını önlemek için çapa dayalı yapılan tahminlerin varyasyonu % 94 düzeyinde açıkladığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla Ladinde sadece çapa dayalı tespitler biyokütlenin tanımlanması ve rakamsal ifadesi için çalışma amacına bağlı olarak yeterli olabilecektir. Bu hem zaman hem de maddi anlamda tasarruf sağlayacaktır. Ancak bilimsel çalışmalar için boya dayalı tahminlerde gerekebilir. Bu çalışma ile ormancılıkta hasılat, amenajman, orman envanteri, işletme ekonomisi, ağaç teknolojisi gibi bilim dallarına yardımcı olacak, ladinin toprak üstü biyokütlesinin belirlenmesine yarayacak tablolar düzenlenmiş bulunmaktadır. Yine bu tablolar ladin meşçerelerinde toprak üstü biyoküttele depolanan karbon miktarının belirlenmesine yardımcı olacaktır. Küresel ısınmanın her geçen gün kendini biraz daha hissettirdiği dünyamızda orman ekosisteminde mevcut biyokütlenin ve dolayısıyla depolanan karbonun belirlenmesi büyük önem arz etmektedir. Biyokütle çalışmaları kullanılarak farklı ağaç bileşenlerine üretimden ne kadar pay ayrıldığı ve bunun ne kadarının toprağa organik madde olarak geri döndüğü belirlenebilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Akalp, T. (1978).** *Türkiye’de Doğu Ladini ormanlarında Hasılat Araştırmaları.* İ.Ü. Orman Fakültesi Yayını, No. 261.
- Alemdağ, Ş., (1980).** *Manual of data collection and processing for the development of forest biomass relationships.* Petawawa Natl. For. Inst., Can. For. Serv., Inf. Rep. PI-X-4, 38p.
- Alemdağ, Ş., (1981).** *Aboveground-mass Equations For Six Hardwood Species From Natural Stands Of The Resarch Forest At Petawawa,* Canadian Forestry Service, Environ. Can., Inf. Rep. PI-x-6, 9p.
- Başçetinçelik, A., Karaca, C. & Öztürk, H.H. (2004).** *Bazı Avrupa Birliği Ülkelerinde Biyokütle Politikaları, V. Ulusal Temiz Enerji Sempozyumu,* Mayıs 2004, İstanbul, Bildiri Kitabı: 439-448s.
- Cairns, M.S., Brown, E.H. & Boumgardner, G. (1997).** *Root Biomass Allocation in The World’s Up land Forests.* *Oecologia, III,* 1-11.
- Carnesale, A., & Chameides, W. (2011).** *America’s climate choices. nrc/nas usa committee on america’s climate choices,* Washington, D.C., 118p.
- Çakıl, E. (2008).** *Zonguldak Orman Bölge Müdürlüğü Karaçam Meşçereleri Biyokütle Tablolarının Düzenlenmesi.* Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak



- Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Zonguldak, Türkiye, 111s.
- Durkaya, B. (1998).** *Zonguldak Orman Bölge Müdürlüğü Meşe Meşcerelerinin Biyokütle Tablolarının Düzenlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Zonguldak, Türkiye, 110s.
- Eid, T., Viken, K.O. & Astrup, R. (2016).** *Models predicting stand level biomass for Norway spruce (Picea spp.), Scots pine (Pinus spp.) and broadleaf dominated forest in Norway*. Norwegian University of Life Sciences, **37**, 31p.
- Grote, R. (2002).** Foliage and Branch Biomass Estimation of Coniferous and Deciduous Tree Species, *Silva Fennica*, **36**(4), 779-788.
- Ingerslev, M. (1999).** Above ground biomass and nutrient distribution in a limed and fertilized norway spruce (picea abies) plantation, *Forest Ecology and Management*, **119**(1/3), 13-20.
- İkinci, O. (2002).** *Zonguldak Orman Bölge Müdürlüğü Kestane Meşcereleri Biyokütle Tablolarının Düzenlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Zonguldak, Türkiye, 86s.
- Kayacık, H. (1960).** Doğu Ladininin Coğrafi Yayılışı. *İ.Ü. Orman Fakültesi Dergisi*, **10**(2), 25-32.
- Köse, S., Başkent, E. Sivrikaya, F. & Yolasığmaz, H. (2002).** Karadeniz’de Orman Fonksiyonlarının Belirlenmesi ve Örnek Uygulamalar. *II. Ulusal Karadeniz Ormanlık Uygulaması*, 15-18 Mayıs 2002, Artvin, Türkiye, 78-87.
- Larr, A. & Liil, W.S. (1978).** Biomass Study in *Pinus radiata* D. Don. *South African Forestry Journal*, **107**(1), 71-76.
- Pajti’k, J., Konopka, B. & Lukac, M. (2008).** Biomass functions and expansion factors in young Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst) trees. *Forest Ecology and Management*, **256**, 1096-1103.
- Pastorella, F. & Paletto, A. (2014).** Biomass allocation in natural regeneration of *Fagus sylvatica* and *Picea abies* trees in Italian Alps. *Metsanduslikud Uurimused*, **61**, 35-46.
- Ravindranath, N.H. & Ostwald, M. (2008).** *Carbon inventory methods: handbook for greenhouse gas inventory, carbon mitigation and round wood production projects*. Berlin: Springer.
- Toksoy, D., Çolak, S. & Bayramoğlu, M.M. (2020).** A Study on The Biomass Energy Potential of Turkey: Example of Wood Pellets. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **5**, 867-871.
- Sun, O., Uğurlu, S. & Arash, B. (1976).** *Stepe geçiş yörelerindeki sarıçam meşcerelerinde biyolojik kütlelerin saptanması*. OEA Yayınları, Teknik Bülten Serisi, 48s.
- Ünsal, A. (2007).** *Adana Orman Bölge Müdürlüğü Kızılcım Biyokütle Tablolarının Düzenlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Zonguldak, Türkiye, 51s.



## Yumurtacı Bildircin Rasyonlarında Beta Vinas Kullanımının Performans, Yumurta Verimi ve Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri

İsmail ÇETİN<sup>1\*</sup> Derya YEŞİLBAĞ<sup>2</sup> Ş. Şule CENGİZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Tekirdağ, Türkiye.

<sup>2</sup>Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa, Türkiye.

Geliş Tarihi: 30 Kasım 2020

Kabul Tarihi: 29 Ocak 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atf yapmak için: Çetin, İ., Yeşilbağ, D. & Cengiz, Ş.Ş. (2021). Yumurtacı Bildircin Rasyonlarında Beta Vinas Kullanımının Performans, Yumurta Verimi ve Yumurta Kalitesi Üzerine Etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 106-111.

How to cite: Çetin, İ., Yeşilbağ, D. & Cengiz, Ş.Ş. (2021). Effects of Beta Vinas Using on Performance, Egg Production and Egg Quality in Layer Quail Diets. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 106-111.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0001-7589-4852>  
ID: <https://orcid.org/0000-0003-1816-2684>  
ID: <https://orcid.org/0000-0003-0708-3833>

**\*Sorumlu yazarın:**

İsmail ÇETİN  
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi, Hayvan Besleme ve  
Beslenme Hastalıkları Anabilim Dalı,  
Tekirdağ, Türkiye.  
✉: [ismailcetin@nku.edu.tr](mailto:ismailcetin@nku.edu.tr)

**Öz:** Bu çalışmada, melastan elde edilen bir fermantasyon ürünü olan beta Vinasın yumurtacı bildircin rasyonlarında kullanımının performans ve yumurta kalitesi üzerine olan etkilerini değerlendirmek amaçlandı. Araştırmada, toplam 180 adet 8 haftalık yaşta Japon bildircini, her grupta 60 adet hayvan olacak şekilde üç gruba ayırdı (5 alt grup her grupta 12 bildircin). Deneme grupları sırasıyla; mısır ve soya temeline dayalı bazal rasyona sırasıyla %0 (Kontrol), %1,5 (15 g/kg) (Deneme I) ve %3 (30 g/kg) (Deneme II) beta vinas eklenen gruplardan oluşturuldu. Araştırma sonunda, yem tüketimi, yumurta verimi, yumurta ağırlığı ve yemden yararlanma oranı gibi performansa ilişkin parametre değerlerinde istatistik açıdan önemli farklılıklar tespit edilmedi ( $P>0,05$ ). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında rasyona beta vinas katkısı yumurta kabuk kalınlığı ve yumurta kabuk direncini önemli düzeyde iyileştirdi ( $P<0,001$ ). Buna karşın yumurta şekil indeksi, yumurta sarı rengi ve haugh birimi parametrelerinde önemli bir farklılık saptanmadı ( $P>0,05$ ). Sonuç olarak beta vinasın her iki dozunun da yumurtacı bildircinlerin yumurta kabuk kalitesinde iyileştirici etkiye sahip olduğu belirlendi.

**Anahtar kelimeler:** Beta vinas, betain, bildircin, performans, yumurta kalitesi.

## Effects of Beta Vinas Using on Performance, Egg Production and Egg Quality in Layer Quail Diets

**Abstract:** In this study, it was aimed to evaluate the effects of beta vinas obtained as a by-product of molasses added to egg quail rations on performance and egg quality. In the experimental study, a total of 180 8-week-old Japanese quails were equally divided into three groups (5 subgroups, 12 quails in each group), 60 in each group. Trial groups, respectively; The control group without additives to the basal ration based on corn and soybeans was formed as 1,5% (15 g/kg) beta vinas addition - Trial Group I, 3% (30 g/kg) beta vinas addition - Trial Group II. At the end of the study, there were no statistically significant differences in the values of performance related parameters such as feed consumption, egg yield, egg weight and feed utilization rate ( $P>0,05$ ). When looking at egg quality parameters, significant differences ( $P<0,001$ ) were detected in egg shell thickness and egg shell breaking strength, while no significant difference was found in the control and experimental group data in the parameters of egg shape index, egg yellow color and haugh unit ( $P>0,05$ ). Egg shell thickness and eggshell breaking strength were measured at higher values in experimental group egg samples. As a result, we can say that the addition of beta vinas to egg quail diets has an improving effect on egg shell quality.

**\*Corresponding author's:**

İsmail ÇETİN  
Tekirdağ Namık Kemal University, Faculty  
of Veterinary Medicine, Animal Nutrition and  
Nutritional Diseases Department, Tekirdağ,  
Turkey.  
✉: [ismailcetin@nku.edu.tr](mailto:ismailcetin@nku.edu.tr)

**Keywords:** Beta vinas, betaine, egg quality, performance, quails.

## GİRİŞ

Hayvancılıkta karlılığı etkileyen faktörlerin başında yem maliyeti gelmektedir. Yem maliyetleri azaldığında uygun fiyatlarda hayvansal ürün elde etmek mümkün olabilmektedir. Bu nedenle alternatif yem ham maddeleri araştırılarak ve mevcut ham maddelerin biyolojik değerliliğini artırarak yem maliyetinde istenen düşüş sağlanabilir. Bu amaç doğrultusunda hayvan besleme alanında melasın fermantasyon ürünü olan beta vinasın yem sanayisinde kullanımına dair bilimsel araştırmalar yapılmaktadır (Bilal vd., 2001). Beta vinasın kimyasal bileşimi %35 ham protein ve %31 betainden oluşmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı beta vinas, iyi bir besin ve mineral kaynağı olarak düşünülebilir (Lopez-Campos vd., 2011). Glisinin trimetil türevi olan betain, metil grubu vericisidir ve protein ve enerji metabolizmasında önemli rol oynar (Metzler-Zebeli vd., 2009; Ratriyanto vd., 2009). Kanatlı hayvanlar metil grubu bileşenleri sentezleyemezler. Bu nedenle rasyonlarına mutlaka dışarıdan takviye edilmelidir. Kolin ve metiyonin gibi diğer metil grubu vericilerinden farklı olarak betain, doğrudan bir metil grubu vericisi olarak hareket edebilir. Metiyonin, metil grubunu vermek için S-adenosilmetiyonine dönüştürülürken, kolin ise betaine oksitlendiğinde, kolinin metil grupları kullanılabilir hale gelmektedir (Ratriyanto vd., 2009). Betain, homosisteinin metiyonine dönüşümü sırasında bir metil grubu sağlayarak rasyondaki metiyoninin bir kısmını ikame etme potansiyeline sahiptir (Metzler-Zebeli vd., 2009; Şahin vd., 2020). Sonuç olarak betain sayesinde, protein sentezi için metiyonin kullanılabilirliği ve sonuçta optimum performans sağlanabilir (Rao vd., 2011). Ratriyanto vd., (2017) tarafından yapılan çalışmada, bıldırcın rasyonlarına %0,06 ve %0,12 betain ilavesinin performans parametrelerinde artış sağladığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bir metil vericisi olan betainin, bir çok çalışmada performans artışı sağladığı bildirilmiştir (Metzler-Zebeli vd., 2009; Ratriyanto vd., 2009; Ezzat vd., 2011).

Yüksek nem, potasyum ve protein yapısında olmayan azotlu bileşikler nedeniyle vinasın, kanatlı hayvanlarda kullanımını sınırlıdır. Ancak, geleneksel olarak üretilen vinasın kullanımını engelleyen yüksek potasyum seviyesi, Integro (Pak Gıda Üretim ve Pazarlama A.Ş., Kocaeli, Türkiye) tarafından üretilen Beta-Vinas ( $\beta$ -Vinas) ile %2'ye düşürülmüştür. Bu çalışmada, Integro tarafından üretilen beta vinas ilavesinin yumurtacı bıldırcınlarda performans ve yumurta iç ve dış kalite parametreleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

**Hayvan, yem materyali ve deneme düzeni:**  
DeneySEL çalışmalar, Bursa Uludağ Üniversitesi Veteriner

Fakültesi Hayvan Sağlığı ve Hayvansal Üretim Uygulama ve Araştırma Merkezindeki bıldırcın ünitesinde yürütüldü. Araştırma için 27/12/2016 tarih ve 2016-16/01 karar no'lu yazı ile Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan gerekli izin alındı. Araştırmada hayvan materyali olarak 180 adet 8 haftalık yaşta Japon (Coturnix coturnix Japonica) ırkı yumurtacı bıldırcınlar kullanıldı. Bıldırcınlar her birinde 60 adet hayvan bulunan 1 kontrol ve 2 deneme grubu olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Her bir deneme grubu kendi içerisinde 12 hayvan olacak şekilde 5 alt gruba bölündü. Hayvanlara ortalama %20 ham protein ve 2900 kkal/kg metabolize olabilir enerji içeren rasyonlar verildi. Yem ham maddelerinin ve karma yemlerin ham besin madde miktarları AOAC'de (AOAC, 2006) bildirilen yöntemlere göre yapıldı. Metabolize olabilir enerji düzeylerinin hesaplanmasında TSE'nin (TSE, 1991) önerdiği formül kullanıldı. Bazal rasyon ve deneme rasyonlarının besin madde içeriği ve kimyasal bileşimi Tablo 1'de, beta vinasın besin madde kompozisyonu Tablo 2'de sunulmuştur. Deneme grupları; sırasıyla mısır ve soya temeline dayalı bazal rasyona katkı ilavesi yapılmayan kontrol grubu, 15 g/kg (%1,5) beta vinas ilavesi - Deneme Grubu I, 30 g/kg (%3) beta vinas ilavesi-Deneme Grubu II şeklinde oluşturuldu. Araştırmada beta vinasın dozunun belirlenmesinde Cengiz vd., (2019) tarafından yapılan çalışma referans olarak alınmıştır. Hayvanlara grup yemlemesi uygulandı. Hayvanlara yem ve su ad libitum olarak verildi. Hayvanların bakım ve beslemesi 8 hafta sürdürüldü. Yumurtacı bıldırcınlar, 45x17x21 cm ebatlarında bölmelere sahip 5 katlı kafeslerde 26°C sıcaklıkta, 24 saat aydınlık ışıklandırma programı uygulanarak barındırıldı.

### **Performans ve yumurta kalite parametreleri:**

Hayvanların tükettiği yem miktarı, iki haftada bir yapılan tartımlarla, grupların yem tüketimi ortalaması olarak kaydedildi. Yemden yararlanma oranı, hem bir düzine yumurta üretimi için tüketilen yem miktarı hem de bir kg yumurta için tüketilen yem miktarı olarak hesaplandı. Yumurta verimini hesaplamak amacıyla her gün aynı saatte olacak şekilde yumurta sayıları not edildi. 15 günde bir toplanan yumurtalar, oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra hassas terazide (Sartorius, Model BSA224S-CW, Germany) tartılarak yumurta ağırlığı belirlendi.

Araştırmanın 15., 30., 45., 60., günlerinde her alt gruptan 4 adet olacak şekilde toplanan yumurtaların, dış kalite özelliklerinin incelenmesi amacıyla şekil indeksi, kabuk kalınlığı, kabuk kırılma direnci, iç kalite özelliklerinin incelenmesi amacıyla ise sarı rengi, haugh birimi belirlendi. Şekil indeksi değeri, yumurtanın en geniş ve en uzun eksen uzunluğunun dijital kumpasla (Caliper, Mitutoyo Code No.500-181-20, Model CD-15CPx, Japan) ölçülmesi ve sonrasında bu iki değer, 'Şekil indeksi = yumurta genişliği (mm)/yumurta uzunluğu(mm)x100' formülünde yerine

konulması ile hesaplandı. Yumurtaların kabuk kalınlığı, yumurtanın sivri, yuvarlak ucu ve orta kısımlarından alınan zarsız üç ayrı kabuk örneğinin dijital kumpasa yerleştirilmesiyle ölçüldü. Ortalama kabuk kalınlığı ise bu üç değer aritmetik ortalaması alınarak bulundu. Yumurtaların kabuk kırılma direncinin saptanması amacıyla, her bir yumurta dik olarak ve küt ucu yukarı gelecek şekilde kabuk kırılma direnci ölçüm cihazına (Push Pull Scale, Imada, Model No.SU-05, Japon) yerleştirildi. Daha sonra cihazın üst mengenesi aşağı doğru kaydırılarak mengene ile yumurta arasında hiç boşluk kalmayacak şekilde sıkıştırıldı. Mengene bu noktadan sonra yumurtanın kırılma noktasına kadar yavaşça daha da aşağıya itildi ve kırılma noktasında skalada okunan değer  $\text{Newton/cm}^2$  ( $\text{N/cm}^2$ ) olarak kaydedildi. Haugh biriminin hesaplanmasında kullanılmak için, her bir yumurta cam bir tabla üzerine dağılmadan kırıldıktan sonra, üç ayaklı mikrometre ile de ak yüksekliği ölçülerek kaydedildi. Yumurtada Haugh birimi hesaplanması için yumurta ağırlığı -g (G) ve ak yüksekliği -mm (H)  $\text{HB}=100\log (H+7.57-1.70G^{0.37})$  formülü kullanılarak hesaplandı. Yumurta sarı renginin ölçülmesinde Roche renk skalası kullanıldı (DMS, 2005-HMB,51548, Switzerland)

**İstatistik analizler:** Araştırmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizinde parametrik test varsayımlarını karşılayan değişkenler için varyans analizi, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık çıktığı durumlarda ise farklılıkların hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığının belirlenmesi amacıyla Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. İstatistik analizler SPSS (SPSS, 1997) paket programıyla yapılmıştır.

**Tablo 1.** Deneme rasyonlarının ham madde bileşimi ve kimyasal kompozisyonu

**Table 1.** Feed composition and chemical composition of trial rations.

Ham maddeler, %	Kontrol	Deneme grubu I (% 1,5 Beta vinas)	Deneme grubu II (% 3 Beta vinas)
Mısır	50,80	50,58	51,90
Soya küspesi, (%46 HP)	15,21	15,00	10,00
Tam yağlı soya, (%36 HP)	14,10	14,35	11,35
Mısır gluteni	5,00	5,00	8,63
Ayçiçeği küspesi, (%28 HP)	3,00	1,50	3,00
Bitkisel yağ	2,50	2,55	2,50
Beta vinas	-	1,50	3,00
DCP	1,45	1,45	1,50
Mermer tozu	6,80	7,00	7,00
Tuz	0,30	0,23	0,13
Vitamin-mineral premiksi <sup>1</sup>	0,35	0,35	0,35
DL-metiyonin	0,11	0,11	0,11
L-lizin	0,10	0,10	0,25
Sodyum bikarbonat	0,10	0,10	0,10
Kolin klorit 60	0,08	0,08	0,08
Antioksidan	0,10	0,10	0,10
<b>Besin madde düzeyleri, %</b>			
Metabolik enerji, kkal/kg	2900,24	2900,26	2900,30
Ham protein	20,00	20,00	19,90
Kalsiyum	3,00	3,00	3,00
Kullanılabilir fosfor	0,35	0,35	0,35

<sup>1</sup> Her 2.0 kg premiks içerisinde; A Vitamini 12 500 000 IU, D<sub>3</sub> Vitamini 4 000 000 IU, E Vitamini 60 000 mg, K<sub>3</sub> Vitamini 3 000 mg, B<sub>1</sub> Vitamini 2 700 mg, B<sub>2</sub> Vitamini 7 000 mg, B<sub>6</sub> Vitamini 4 000 mg, B<sub>12</sub> Vitamini 20 mg, Niasin 40 000 mg, Kalsiyum d-pantotenat 15 000 mg, Folik asit 1 500 mg, Biotin 150 mg, Mn 75 000 mg, Fe 45 000 mg, Zn 60 000 mg, Cu 10 000 mg, Co 200 mg, I 200 mg, Organik Se 150 mg, Se 150 mg, Crina Poultry Plus 160 000 mg, Fitaz 1 000 000 FTU, Ksilanaz 270 000 U, Beta-Glukanaz 80 000 U, Fungal-1.3-B-Glukanaz 70 000 U.

**Tablo 2.** Araştırmada kullanılan beta vinas'ın besin madde bileşimi.

**Table 2.** Nutrient composition of beta-vinasse used in the research.

Besin Maddeleri	Beta Vinas (%100 KM)	Beta Vinas (% 63 KM)
Ham protein (%)	35,39	22,30
Ham kül (%)	17,46	11,00
Metabolik enerji (MJ/kg)	6,20	3,91
Ham selüloz (%)	1,26	0,80
Lizin (%)	0,21	0,137
Metiyonin & Sistein (%)	0,050	0,032
Metiyonin (%)	0,050	0,032
Treonin (%)	0,26	0,169
Valin (%)	0,32	0,206
İzolösin (%)	0,21	0,136
Arjinin (%)	0,09	0,061
Triptofan (%)	0,06	0,039
Kalsiyum (%)	0,04	0,028
Total fosfor (%)	0,08	0,054
Sodyum (%)	2,23	1,41
Potasyum (%)	2,87	2,05
Betain (%)	31,74	20,00
D.Lizin (%)	0,13	0,086
D.Metiyonin & Sistein (%)	0,31	0,20
D.Metiyonin (%)	0,33	0,21
D.Treonin (%)	0,16	0,105
D.Valin (%)	0,20	0,130
D.İzolösin (%)	0,13	0,084
D.Arjinin (%)	0,06	0,039
D.Triptofan (%)	0,03	0,024

Beta vinas ve beta vinasın besin madde bileşimi İntegro tarafından sağlanmıştır.

## BULGULAR

Rasyonlara ilave edilen melas yan ürünü olarak elde edilen ve beta vinas olarak adlandırılan modifiye vinas Tablo 2'de görüldüğü gibi, (% 100 kuru madde üzerinden) % 35,39 ham protein, % 17,46 ham kül, % 31,74 betain ve % 2,87 potasyum içermektedir. Kuru madde seviyesi % 45-55 oranında ayçiçeği tohumuna emdirilip kurutularak % 94'e çıkarılmıştır. Yumurtacı bildircin rasyonlarına farklı düzeylerde ilave edilen beta vinasın performans parametreleri ve yumurta kalitesi üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yürütülen bu çalışmadan gruplardan elde edilen performans değerleri Tablo 3'de verilmiştir. Elde edilen değerlere göre, grupların yem tüketimi, yumurta verimi, yumurta ağırlığı ve yemden yararlanma oranı verilerinin beta vinas ilavesinden etkilenmediği ve gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık oluşmadığı belirlenmiştir ( $P>0.05$ ). Rasyona beta vinas ilavesinin yumurta iç ve dış kalite parametreleri üzerine olan etkileri Tablo 4'te gösterilmiştir. Yumurtacı bildircin rasyonlarına beta vinas ilavesi yumurta kalite parametrelerinden yumurta kabuk kalınlığı ( $P<0.001$ ) ve yumurta kırılma direnci ( $P<0.001$ ) verileri üzerinde önemli farklılıklara neden olurken; şekil indeksi, yumurta sarı rengi ve haugh birimi değerlerinde önemli bir farklılığa neden olmamıştır.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, yumurtacı bildircin rasyonlarına ilave edilen betain kaynağı olan beta vinas başlıca % 22,30 ham protein, % 11,00 ham kül, % 20,00 betain ve % 2,05 potasyum içeren bir besin madde bileşimine sahiptir. Yalçın vd., (2010) bu çalışmada bildircin rasyonlarına ilave edilen

beta vinası benzer bir ürün olan modifiye edilmiş vinas ürünü ProMass'ı (% 35,47 ham protein,% 5,94 ham kül,% 10 betain ve % 1,66 potasyum) kullanmışlardır. Konuya ilişkin araştırmalar incelendiğinde (Yalçın vd., 2010; Cengiz vd., 2019), beta vinasın besin madde bileşiminin değişkenlik gösterdiği dikkati çekmektedir. Bu değişkenliğin işleme koşullarındaki ve ekstraksiyon yöntemlerindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Mevcut çalışmada, bildircin rasyonlarına 15 g/kg ve 30 g/kg düzeyinde beta vinas ilavesinin yem tüketimi, yumurta ağırlığı ve yemden yararlanma oranı gibi performans parametreleri üzerine kontrol ve deneme grupları arasında önemli bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir. Gudev vd., (2011) tarafından yapılan bir

çalışmada benzer şekilde yumurtacı tavuk rasyonlarına 0,7 ve 1,5 g/kg düzeylerinde betain ilavesinin yumurta kalitesine ilişkin parametrelerde önemli bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir. Buna karşın, broyler rasyonuna 30 g/kg düzeyinde bromass (modifiye edilmiş vinas) ilavesinin yapıldığı diğer bir çalışmada, broylerde başlangıç ve gelişme periyodunda canlı ağırlık ve canlı ağırlık kazancında önemli düzeyde artışa neden olurken, yem tüketiminde ise önemli düzeyde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Cengiz vd., 2019). Ayrıca broyler rasyonlarına vinas ilavesinin performans üzerinde olumlu etkilere neden olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur (Bilal vd., 2001; Stemme vd., 2005).

**Tablo 3.** Yumurtacı bildircin rasyonlarına beta vinas ilavesinin performans parametreleri üzerine etkisi.

**Table 3.** Effect of beta-vinasse supplementation on performance parameters in layer quail diets.

Parametreler	Kontrol grubu		Deneme grubu I (%1.5 Beta vinas)		Deneme grubu II (% 3 Beta vinas)		P değeri
	n	X ± Sx	X ± Sx		X ± Sx		
Başlangıç CA, g	5	233,12±2,33	229,92±4,00		217,44±9,25		0,168
Yem tüketimi, g	5	42,02±3,46	41,16±2,07		40,94±2,54		0,428
Yumurta verimi, %	5	86,73±7,27	83,76±5,22		85,66±7,10		0,335
Yumurta ağırlığı, g	5	11,67±0,90	11,78±0,89		11,77±1,03		0,514
YYO, kg yem/12 yumurta	5	0,58±0,05	0,59±0,03		0,57±0,03		0,514
YYO, kg yem/kg yumurta	5	4,17±0,40	4,18±0,25		4,08±0,30		0,573

CA: Canlı ağırlık

YYO: Yemden yararlanma oranı

Değerler ortama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

**Tablo 4.** Yumurtacı bildircin rasyonlarına beta vinas ilavesinin yumurta kalite parametreleri üzerine etkisi.

**Table 4.** Effect of beta-vinasse supplementation on egg quality parameters in layer quail diets.

Parametreler	Kontrol grubu		Deneme grubu I (%1.5 Beta vinas)		Deneme grubu II(%3 Beta vinas)		P değeri
	n	X ± Sx	X ± Sx		X ± Sx		
Şekil indeksi	20	77,53±2,82	77,89±2,66		77,67±2,60		0,696
Yumurta sarı rengi	20	11,71±1,22	11,88±0,91		11,66±0,84		0,349
Yumurta kabuk kalınlığı, µm	20	0,14±0,01 <sup>b</sup>	0,16±0,02 <sup>a</sup>		0,16±0,03 <sup>a</sup>		0,000
Yumurta kırılma direnci, N/cm <sup>2</sup>	20	12,36±1,78 <sup>b</sup>	13,48±2,42 <sup>a</sup>		13,99±2,48 <sup>a</sup>		0,000
Haugh birimi	20	88,20±3,80	87,79±4,67		87,31±6,02		0,528

<sup>ab</sup>: Aynı satırda değişik harflerle ifade edilen değerler arasındaki fark önemlidir. (P<0,05)

Değerler ortama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Distile vinasın kullanıldığı diğer bir çalışmada, vinasın kompozisyonuna bağlı olarak hayvansal üretimde bir yem katkı maddesi gibi kullanımının önemli etkilere neden olabileceği ifade edilmiştir (Mc-Pherson vd., 2002). Lewicki (2001) ve Stemme vd., (2005), yaptıkları çalışmalarda ise, rasyona beta vinas ilavesinin yem maliyetinde azalmaya ve daha yüksek düzeyde performans elde edilmesine neden olduğunu rapor etmişlerdir. Bunun yanı sıra vinas içeriğinde B kompleks vitaminlerinin bulunması nedeniyle yem tüketiminde artış ve hayvan davranışları üzerinde uyarıcı bir etki oluşturduğu tespit edilmiştir (Gohl, 1991).

Yapılan literatür taramaları sonucunda yumurtacı kanatlı rasyonlarına beta vinas kullanımına ilişkin araştırma sayısının kısıtlı olduğu dikkati çekmiştir. Bu bağlamda; yumurtacı bildircinler üzerinde yapılan mevcut çalışma sonuçlarının, beta vinasın etkilerinin

araştırılacağı diğer yumurtacı kanatlı türlerinde yapılacak çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir. Çalışmada bildircin rasyonuna ilave edilen beta vinasın yumurta verimi üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. Yumurtacı tavuk rasyonlarına betain ilavesinin yapıldığı başka bir çalışmada ise, yumurta veriminde önemli artışa neden olduğu tespit edilmiştir (Gudev vd., 2011).

Mevcut araştırmada, yumurtacı bildircin rasyonlarına betain yönünden zengin beta vinas ilavesi; yumurtanın dış kalitesine ilişkin parametrelerden, kabuk kalınlığı ve kabuk kırılma direncinde kontrol grubuna göre önemli düzeyde iyileşmeye neden olmuştur. Beta vinas ilavesinin yumurta kabuğu üzerindeki bu olumlu etkisinin betainin bağırsaklardaki mineral madde emilimindeki pozitif yönlü etkiden ve betainin aktif metil grubu sağlayabilmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Cabezón vd. (2016) ile Shengyan vd. (2017) ise, sıcak

stresi koşullarında yetiştirilen yumurtacı tavuk rasyonlarına 200, 400, ve 600 mg/kg düzeyinde betain ilavesinin yumurta kalite parametrelerinde önemli bir etkiye neden olmadığını tespit etmişlerdir.

Sonuç olarak, yapılan çalışmada yumurtacı bıldırcın rasyonlarına betain kaynağı olarak farklı oranlarda beta vinas ilavesinin performans parametreleri üzerinde olumsuz etkiye neden olmaksızın yumurta kalite parametrelerinden kabuk kalınlığında artışa ve kabuk kırılma direncinin geliştirilmesinde pozitif etkiye neden olabildiği kanısına varılmıştır. Bununla birlikte tespit ettiğimiz bu olumlu etkilerin metabolizmasını detaylandırmak ve açıklamak amacıyla ilave çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- AOAC. (2006).** Official Methods of Analysis, 18th ed., Association of Official Analytical Chemists, Inc., Arlington, VA, USA.
- Bilal, T., Özpınar, H., Gürel, A., Özcan, A., Abaş, İ. & Kutay, H.C. (2001).** Effects of beet vinasse (desugarized molasses) on performance, blood parameters, morphology, and histology of various organs in broilers. *Archive Geflügelkunde*, **65**, 224-230.
- Cabezon, F.A., Stewart, K.R., Schinckel, A.P., Barnes, W., Boyd, R.D., Wilcock, P. & Woodliff, J. (2016).** Effect of natural betaine on estimates of semen quality in mature AI boras during summer heat stress. *Animal Reproduction Science*, **170**, 25-37. DOI: [10.1016/j.anireprosci.2016.03.009](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.03.009)
- Cengiz, S.S., Yesilbag, D., Cetin, I., Gunes, N.A., Eren, M. & Topaloglu, G. (2019).** Use of bromass in broiler rations as a different protein source. *Revue de Medecine Veterinaire*, **170**, 95-103.
- Ezzat, W., Shoeib M.S., Mousa, S.M.M., Bealish A.M.A. & Ibrahim Z.A. (2011).** Impact of betaine, vitamin C and folic acid supplementations to the diet on productive and reproductive performance of Matrouh poultry strain under Egyptian summer condition. *Egyptian Poultry Science Journal*, **31**, 512-537.
- Gohl, B. (1991).** Tropical feeds (edición computarizada). Oxford Computer Journals: Oxford and FAO: Roma.
- Gudev, D., Popova-Ralcheva, S., Yanchev, I., Moneva, P., Petkov, E. & Ignatova, M. (2011).** Effect of betaine on egg performance and some blood constituents in laying hens reared indoor under naturel summer temperatures and varying levels of air ammonia. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, **17**, 859-866.
- Lewicki, W. (2001).** Introduction to vinasses (cms) from sugarbeet and sugar cane molasses fermentation. *International Sugar Journal*, **103**, 126.
- Lopez-Campos, O., Bodas, R., Prieto, N., Frutos, P., Andres, S. & Giraldez, F.J. (2011).** Vinasse added to the concentrate for fattening lambs: intake, animal performance, and carcass and meat characteristics. *Journal of Animal Science*, **89**, 1153-1162. DOI: [10.2527/jas.2010-2977](https://doi.org/10.2527/jas.2010-2977).
- Mc-Pherson, D., Reyes, K. & Socarrás, Y. (2002).** Evaluación de alternativas para el aprovechamiento del mosto alcoholero de destilería y la reducción de la contaminación ambiental. *Tecnología Química*, **22**, 5.
- Metzler-Zebeli, B.U., Eklund, M. & Mosenthin, R. (2009).** Impact of osmoregulatory and methyl donor functions of betaine on intestinal health and performance in poultry. *World's Poultry Science Journal*, **65**, 419-441. DOI: [10.1017/S0043933909000300](https://doi.org/10.1017/S0043933909000300).
- Rao, S.V.R., Raju, M.W.L.N., Panda, A.K., Sahaira, P. & Sunder, G.S. (2011).** Effect of supplementing betaine on performance, carcass traits and immune responses in broiler chicken fed diets containing different concentration of methionine. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, **24**, 662-669. DOI: [10.5713/ajas.2011.10286](https://doi.org/10.5713/ajas.2011.10286).
- Ratriyanto, A., Indreswari, R. & Nuhriawangsa A.M.P. (2017).** Effects of dietary protein level and betaine supplementation on nutrient digestibility and performance of Japanese Quails. *Brazilian Journal of Poultry Science*, **19**, 445-454. DOI: [10.1590/1806-9061-2016-0442](https://doi.org/10.1590/1806-9061-2016-0442).
- Ratriyanto, A., Mosenthin, R., Bauer, E. & Eklund, M. (2009).** Metabolic, osmoregulatory and nutritional functions of betaine in monogastric animals. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, **22**, 1461-1476. DOI: [10.5713/ajas.2009.80659](https://doi.org/10.5713/ajas.2009.80659).
- Shengyan, H., Longsheng, L., Guodong, W., Xian, G. & Faming, P. (2017).** Effects of dietary betaine on production performance, egg quality and serum biochemical parameters of layers under heat stress condition. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, **29**, 184-192.
- SPSS. (1997).** Statistical software for Windows version 7.5 Microsoft Windows. SPSS, Chicago, IL, USA.
- Stemme, K., Gerdes, B., Harms, A. & Kamphues, J. (2005).** Beetvinsasse (condensed molasses solubles) as an ingredient in diets for cattle and pigs—nutritive value and limitations. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **89**, 179-183. DOI: [10.1111/j.1439-0396.2005.00554.x](https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2005.00554.x)

- Şahin, T., Özel, O.Ç. & Ölmez, M. (2020).** The effect of supplementation of betaine on performance, carcass yield and some blood parameters in broilers. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **17**, 260-267. DOI: [10.32707/ercivet.828789](https://doi.org/10.32707/ercivet.828789).
- TSE. (1991).** Hayvan yemleri (Çevrilebilir) enerji tayini (Kimyasal Metot). TSE No: 9619, Türk Standartları Enstitüsü. Ankara.
- Yalçın, S.K., Eltan, Ö. & Karşı, M.A. (2010).** The nutritive value of modified dried vinasse (ProMass) and its effects on growth performance, carcass characteristics and some blood biochemical parameters in steer. *Revue de Medecine Veterinaire*, **161**, 245-252.



## Investigation of *Momordica Charantia* Effects on Foot Inflammation Model in Rats and Behavioral Changes Due to This Inflammation; Experimental Model. Investigation of the Effects of *Momordica Charantia*<sup>[\*]</sup>

Aybike TÜRKMEN<sup>1</sup> Ali TAGHIZADEHGHALEHJOUGHİ<sup>2,4\*</sup> Maryam MOHAMADZADEH AKIN<sup>3</sup>  
Sidika GENÇ<sup>4</sup> Ahmet HACIMUFTUOĞLU<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Adnan Menderes University, Faculty of Veterinary Medicine, Department Pharmacology and Toxicology, 09016 Aydın, Turkey

<sup>2</sup>Ataturk University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pharmacology and Toxicology, 25240 Erzurum, Turkey

<sup>3</sup>Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Cyprus international university, 99258 North Nicosia, Northern Cyprus

<sup>4</sup>Ataturk University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, 25240 Erzurum, Turkey

Geliş/Received: 3 December 2020

Kabul/Accepted: 25 February 2021

Yayın/Published: 31 March 2021

How to cite: Türkmen, A., Taghizadehghalehjoughi, A., Mohamadzadeh Akin, M., Genc, S. & Hacimuftuoglu, A. (2021). Investigation of *Momordica Charantia* Effects on Foot Inflammation Model in Rats and Behavioral Changes Due to This Inflammation; Experimental Model. Investigation of the Effects of *Momordica Charantia*. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 112-119.

Atıf yapmak için: Türkmen, A., Taghizadehghalehjoughi, A., Mohamadzadeh Akin, M., Genc, S. & Hacimuftuoglu, A. (2021). *Momordica Charantia*'nın Ratlarda Oluşturulan Ayak İnflamasyon Modeli ve Buna Bağlı Olarak Gelişen Davranış Değişiklikleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 112-119.

<https://orcid.org/0000-0002-4119-7490>  
 <https://orcid.org/0000-0002-3506-0324>  
 <https://orcid.org/0000-0003-1220-1697>  
 <https://orcid.org/0000-0003-0000-5103>  
 <https://orcid.org/0000-0002-9658-3313>

\*Corresponding author's:  
Ali TAGHIZADEHGHALEHJOUGHİ  
Faculty of Veterinary Medicine, Department of  
Pharmacology and Toxicology, Ataturk  
University, 25240 Erzurum, Turkey.  
✉: [ali.tgzd@atauni.edu.tr](mailto:ali.tgzd@atauni.edu.tr)

**Abstract:** Pain is an unpleasant sensation originating from any part of the body, associated with actual or possible tissue damage, and linked to past human experiences. *Momordica Charantia* (MC) or bitter melon mainly is used all around the world for the treatment of diabetes, cancer and inflammation- associated conditions due to the existence of many bioactive ingredients which have vigorous biologic effect. The aim of our study is to investigate how low and high doses of MC plant affect foot inflammation and animal's behavior. Sixteen male rats randomly divided into 4 experimental groups. Formaldehyde was (hind-paw formalin injection) administered for inducing pain model. After 24 hours MC (50 mg/kg, 200 mg/kg) was administered every day for five days. During the experiment, the pain thresholds, locomotor activity measurements and inflamed foot volume, Locomotor Activity Test and Water Overflow Method in sequence.

According to our result, when we consider the foot volume, pain threshold and locomotor activity data of our control group, there is no significant difference between the beginning and the last day, on the 7<sup>th</sup> day, the pain threshold continues to decrease as the foot volume of our animals in our positive control group does not decrease. 200 mg concentration of MC has provided a great treatment by reducing the increasing foot volume at the same time pain threshold and motor activity was in highest level at 4<sup>th</sup> day.

Our experiment shows that MC (200 mg/ml MC) has high analgesic activity provides significant pain reduction and improvement in symptoms

**Keywords:** Artificial Surface, Classification, Heat Island.

## *Momordica Charantia*'nın Ratlarda Oluşturulan Ayak İnflamasyon Modeli ve Buna Bağlı Olarak Gelişen Davranış Değişiklikleri Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

**Öz:** Ağrı, vücudun herhangi bir yerinden kaynaklanan, gerçek veya olası doku hasarı ile ilişkilendirilen ve insanın geçmiş deneyimleriyle bağlantılı hoş olmayan bir histir. *Momordica charantia* (MC), güçlü biyolojik etkiye sahip birçok biyoaktif bileşenin varlığından dolayı, tüm dünyada başlıca diyabet, kanser ve iltihap ile ilişkili durumların tedavisinde kullanılmaktadır. Çalışmamızın amacı, MC bitkisinin düşük ve yüksek dozlarının ayak iltihabını ve hayvanın davranışını nasıl etkilediğini araştırmaktır.



On altı erkek sıçan rastgele seçilerek 4 deney grubuna ayrılmıştır. Ağrı modelini indüklemek için formaldehit (arka pençe formalin enjeksiyonu) uygulanmış ve Formaldehit uygulanmasından 24 saat sonra beş gün boyunca her gün MC (50 mg / kg, 200 mg / kg) uygulanmıştır. Deney sırasında ağrı eşikleri, lokomotor aktivite ölçümleri ve iltihaplı ayak hacmi, Locomotor Aktivite Testi ve Su Taşma Yöntemi testleri çalışılmıştır.

Sonucumuza göre, kontrol grubumuzun ayak hacmi, ağrı eşiği ve lokomotor aktivite verilerini göz önüne aldığımızda başlangıç ile son gün arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. 7. günde ağrı eşiği düşmeye devam ederken Pozitif kontrol grubumuzdaki hayvanlarımızın ayak hacminde azalma görülmemiştir. 200 mg MC konsantrasyonu artan ayak hacmini azaltmasının yanı sıra ağrı eşiğini de azaltarak harika bir tedavi sağlamıştır. Bunların yanı sıra lokomotor aktivitenin ise 4. günde en yüksek seviyede olduğu tespit edilmiştir. Deneyimizin sonucuna göre MC'nin (200 mg / ml MC) yüksek analjezik aktiviteye sahip olduğunu, belirgin ağrı azalması ve semptomlarda iyileşme sağladığını göstermektedir.

**\*Sorumlu yazar:**

Ali TAGHIZADEHGHJALEHJOUGHJI  
Veteriner Fakültesi, Atatürk Üniversitesi,  
Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı,  
25240 Erzurum, Türkiye.  
✉: ali.tgzd@atauni.edu.tr

**Anahtar kelimeler:** Formaldehite bağlı ağrı modeli, İnflamasyon, *Momordica charantia*.

## INTRODUCTION

Pain is a pathetic feeling due to intense or damaging stimulus. The International Association for the Study of Pain's greatly used description, defines pain as "An unpleasant sensory and emotional experience related, or look alike that associated with, actual or potential tissue damage (Raja et al., 2020). Nociceptive and neuropathic pain are two main types of physical pain. Nociceptive pain can be considering as pain related to tissue injury or even potential damage: nociceptors are sensory endings on nerves that can be excited or sensitized and signal potential tissue damage. When there has been tissue injury, it is natural to have an inflammatory response and this is a good thing (Williams et al., 2012).

Inflammation is arranged body system response that is designed to help recover the tissue damage (Schug & Goddard, 2014). The inflammatory response is well organized and include blood-borne chemicals, immune system chemicals and some chemicals secreted from specialized nerve fibers (Moseley & Flor, 2012). Sprained ankle, nonspecific low back pain or neck pain, broken bones, or pulled muscles are clear example for nociceptive pain. The symptom of tissue injury such as swelling, redness and later purple or yellowing of the skin, a limb that seems damaged, increased susceptibility, to touch and movement (Smolen et al., 2010).

In the medical, FA is used in Anatomy, Histology and Pathology laboratories as a solution for embalming and fixation by employees. Formaldehyde, which is inescapably taken up exogenously to organisms, usually occurs through the skin and digestive system, and normally through the respiratory system (Cheney & Collins, 1995; Nilsson et al., 1998; Ozen et al., 2005; Restani & Galli, 1991; Songur et al., 2010; Thrasher & Kilburn, 2001; Zararsiz et al., 2007).

FA, which causes an increase in cytotoxic effects by compromising the intracellular balance, can combine with proteins, nucleic acids (DNA and RNA) and unsaturated fatty acids by non-enzymatic processes. These

combinations cause inflammatory reactions, allergic reactions, cytotoxicity, necrosis and mutagenic and carcinogenic effects by developing denaturation in proteins. Also, free oxygen radicals are increased in the tissues affected by FA, and this increase speeds up the processes (apoptosis or necrosis) that induce cell death (Songur et al., 2008; Zararsiz et al., 2006).

There are available data in the literature that FA has toxic effects on the skin, respiratory system, nervous system, gastrointestinal system and urinary system, as well as allergic effects (Kim et al., 1999; Nilsson et al., 1998; Ozen et al., 2005; Songur et al., 2010; Thrasher & Kilburn, 2001; Zararsiz et al., 2007).

When Formalin test compared to other nociceptive stimulus (e.g. thermal, electrical, or mechanical stimulation), the properties of this test (i.e. a progressive pain response, which has a relatively long duration and is inevitable) are thought to most nearly imitate clinical pain (Clavelou et al., 1995; Coderre & Melzack, 1992).

The formalin test in mice or rat is a valid and reliable model of nociception and is sensitive for various classes of analgesic drugs. Hind paw injection of formalin is a model used to assess intense, short-lasting (minutes to tens of minutes) persistent pain and evaluate analgesic drugs in laboratory animals. Injection of formalin (1%-10%) to glabrous part of the hind paw creates behavioral nociceptive responses that are described by three phases (Clavelou et al., 1995; Coderre & Melzack, 1992).

The early phase of activity (0-7 min) starts instantly after injection and reflects a direct activation of peripheral nociceptors. Following this time, the interphase begins, which is defined by weakening of nociceptive behaviors. There are many information about using formalin test as an acute and tonic inflammatory pain model, containing inflammatory and chronic pain condition. The second phase (15-90 min) starts nearly 15 minutes after the injection and reflects ongoing peripheral activity and central sensitization (Azhdari-Zarmehri et al., 2013; Coderre & Melzack, 1992; Erami et al., 2012; Gheibi

et al., 2013). Also, beside of biphasic painful behaviors electrophysiological responses from dorsal horn neurons of the spinal cord, can be recorded for longer than one hour after formalin injection (Clavelou et al., 1995; Coderre & Melzack, 1992; 2012; Hunskaar, 1987).

However, the different nociceptive behaviors induced by formalin injection into the glabrous vs hairy skin are not well examined until now. Analyzing the differences in these formalin-induced nociceptive behaviors can help us to get the mechanisms underlying the nociceptive responses that happen in various phases of the formalin test.

On the other hand, *Momordica charantia* (MC), belongs to the family Cucurbitaceae and generally identify as bitter melon or melon (Zhang et al., 2016). MC grows in tropical and subtropical zone and has been properly used in folk medicine in Pakistan, India, China and Sri Lanka for a long period of time (Polito et al., 2016). This plant has been used against of different illnesses inclusive diabetes, cancer, obesity, viral and bacterial infection, hypertension, and AIDS (Grover & Yadav, 2004), and these medicinal properties are refer to the fruits, specially under ripe fruits, seeds, leaves, and roots of the plant (Scartezzini, 2000).

The way in which a person lives and dietary habits effect to a chronic state of low grade inflammation, which can switch immune status and bowel flora. a lot of dietary constituent have the potential to lighten tendency to chronic inflammatory and can be helpful in their remedy (Çelik et al., 2019). Even so, the correlation among most of these dietary ingredients and their anti-inflammatory mechanisms is vague (Minihane et al., 2015).

MC dietary supplementation has been greatly studied to treat many diseases, such as type 2 diabetes, dyslipidemia, obesity and cancer, so showing that MC extracts have hypoglycemic and lipid-lowering features, even if clinical trials conducted until now gave inadequate results (Alam et al., 2015).

Different evidences point out that oxidative stress plays a role in chronic inflammatory diseases. Thus, oxidative stress and inflammation are nearly related pathophysiological processes that able to activate each other. MC advantageous traits dependent on its anti-oxidant and inflammatory activities (Biswas, 2016; Chao et al., 2014).

Various MC extracts were found to construct inflammation largely through NF- $\kappa$ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) signaling pathway inhibition: in RAW 264.7 cells, bitter melon reduced TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor-alpha) production, induced by LPS, decreasing the expression of LPS (lipopolysaccharide) induced inflammatory genes, including those for IL1 $\alpha$  (interleukin), IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$ .

The MC extracts also reduced NF- $\kappa$ B DNA binding activity and phosphorylation of p38, ERKs (extracellular signal-regulated kinases), JNKs (c-Jun N-terminal Kinases) as well as MAPKs (mitogen-activated protein kinases) (Kobori et al., 2008a; Kobori et al., 2008b). In addition, MC demonstrated reduction of LPS-induced NO and prostaglandin E2 production together with decrease of inducible NO synthase and IL-1 $\beta$  expression (Lii et al., 2009). Some evidences noticed that MC extracts reduced expression levels of inducible NO synthase and cyclooxygenase-2, prohibit NF- $\kappa$ B, and activator protein-1 (AP-1) activity by down regulation of ERKs and Akt (Hsu et al., 2013; Yang et al., 2018).

The effects of a triterpene purified from bitter melon was studied against TNF- $\alpha$ -induced inflammation by AMP-activated protein kinase in FL83B cells. This composite prevented the TNF- $\alpha$ -induced expression of inflammatory markers, containing inducible NO synthase, p65

Subunit of NF- $\kappa$ B, IL-1 $\beta$ , and TNF- $\alpha$  (Cheng et al., 2012; Xu et al., 2014). According to study that conducted in 2014, high-fat diet supplemented with MC is given to C57BL/6 mice, a reducing in serum C reactive protein and IL-6 concentrations together with a loss of and hyperlipidemia hyperglycemia was reported. The MC-containing diet also standardized serum levels of the cytokines proposing its duty in decreasing inflammation, obesity and insulin resistance in obese mice (Bao et al., 2013).

## MATERIAL AND METHOD

**Chemicals:** In the study, FA (37% solution) was purchased from biokim, (Turkey), MC (1000 mg film-coated tablets), was obtained from (Izmir, Turkey)

**Animals:** In this trial, we used 16 male Albino Sprague Dawley rats weight 350-400 g. The experimental animals were housed and fed in plastic cages with sawdust in a natural day and night at normal room temperature (22 °C) in the laboratory. The principle supports the well-being of animals used for scientific targets, and aim to reduce their experience of suffering. This study was conducted by obtaining ethical approval from Atatürk University Experimental Animal Ethics Committee dated 16.12.2020 and numbered 36643897-000-E.2000313486.

**Inflammation model in rat:** Our study consists of four groups, with four animals in each group. On the first day of our experiment, basal levels of behavior, pain, foot volumes and weight of our animals were measured. After basal measurement, 0.5 ml 37% Formaldehyde injection was applied to produce mechanical hyperalgesia and allodynia. To reduce pain in animals, 400 mg of paracetamol was added to the animals' water as a painkiller.

After 24 hours of formaldehyde injection, the animals' basic behavior, pain, foot volume and weight were measured.

**Pain assessment:** Pain thresholds were measured with the aid of analgesia meter (Ugo Basile, Italy). The Randall-Selitto paw pressure test (Randall & Selitto, 1957) is a susceptible test, is used for evaluation of the pain response in animals (Hacimuftuoglu et al., 2020). This test is ground on detection of the animal threshold response to pain stimulated by the application of a continuously increasing pressure on the paws (Hacimuftuoglu et al., 2020; Randall & Selitto, 1957).

All measurements were made from the left feet of the animals until the end of the experiment.

**Behavior (Locomotor activity function determination) Test:** In our study, the locomotor activities of animals were measured with a biotech device. Locomotor Activity Test gives an idea about the stereotypical movements and aggressiveness of the animal. The basis of the locomotor activity measurement system is a square-shaped quadrilateral with infrared light sources on each side. A square shaped plexiglass cage that is large enough to fit into this rectangle is placed. When the experimental animal makes a movement in the cage, it interrupts the communication between the mutual infrared sensors and this experiment is recorded by a recorder connected to the device according to the shape of the movement of the animal. The horizontal, vertical and ambulatory activities of animals can be recorded with the help of this system (Sturman et al., 2018).

The animals were placed in the device in such a way that they could not see each other, and their rest periods and distance traveled were measured for 15 minutes.

**Evaluation of foot volumes:** The measurement of foot volumes was made using the water overflow method. For this, a falcon tube was filled with water until the water reached the overflow stage and water was carried over by immersing the feet of the animals. It was brought back to the same volume by adding as much liquid as the water in the ground, and the added water was measured and used for analysis.

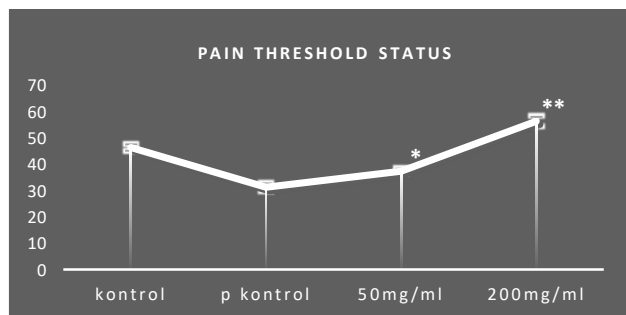
**Statistical analysis:** The analysis of the data of our study was evaluated with SPSS 21.0 program and One Way Anova method and  $P < 0.05$  was considered significant.

## RESULTS

In our study, animals were divided into four groups (n=4). On the first day of our experiment (day 0), Pain threshold, basal levels of behavior and foot volumes were measured by Randall–Selitto analgesiometer,

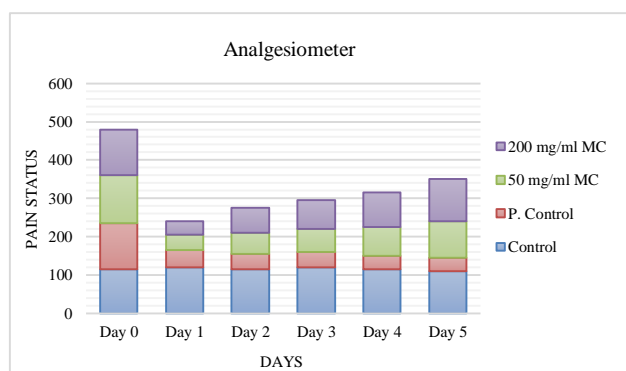
Locomotors Activity Test and water overflow method respectively. The animals' weights were measured before and after the experiment. Three groups of rats were (hind-paw formalin injection) injected (day 0) with 0.5 ml of 37% FA to create mechanical hyperalgesia and allodynia. Also 400 mg of paracetamol was added to the animals' water as a pain reliever to reduce pain and relieve animals. After 24 hours of formaldehyde injection, the animals' basic behavior, pain, foot volume and weight were measured. As a result of painful swelling in the foot after 24 hours, 50, 200 mg/kg concentration of MC were administered consecutively every day for five days to two groups by gavage. 1 ml distilled water IP were given to control group.

**Pain assessment results:** The results of our experiment are shown in Figure 1. and 2. In our results, the data obtained from the pain threshold measured on the first day and the pain thresholds on the last day were evaluated. In our control group, the pain threshold was measured as 48.75 on the 1st day, while the result on the 7<sup>th</sup> day was measured as 46.5 and there was no significant difference between the data. However, in our positive control group (FA (37% solution)), there is a 17.5 difference between the initial and last day results. This difference shows that the level of pain increases. In our treatment groups, although the threshold increased in the 50 mg/ml MC group, there was no significant difference with the basal level. At 200 mg/ml MC group results, the pain threshold increased from 43.5 to 56.25 and the pain sensation disappeared completely.



**Figure 1.** The results of pain threshold status.

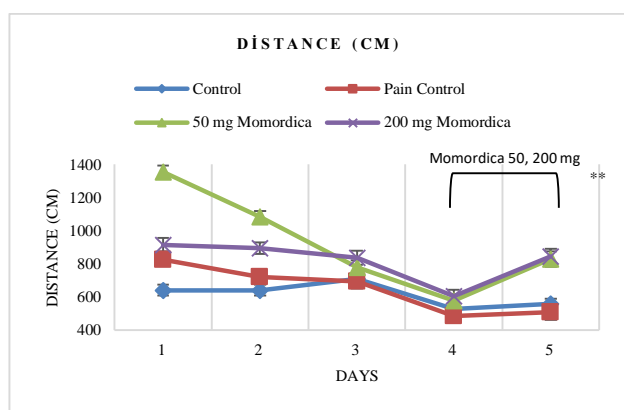
\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.001$  compared to P control group.



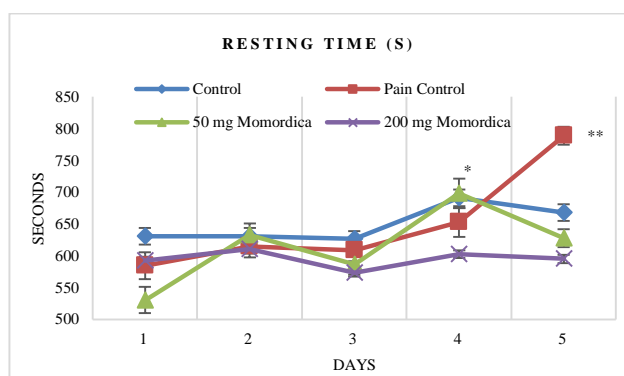
**Figure 2.** The results of analgesiometer.

**Behavior (function determination) test results:**

Our data includes travel distance (Figure. 3) and resting time (Figure. 4). According to our results, mobility showed a great decrease after formaldehyde injection in all groups except control group. However, in our treatment groups, the movement started to improve from the 2nd day and the distance covered increases from the 4<sup>th</sup> day. In addition, in the 7<sup>th</sup> Day results, the range of motion became almost equal to its basal level in the 200 mg/ml MC group. However, the ability to move decreases even on the 7<sup>th</sup> day, as the inflammatory condition continues in the positive control group. Similarly, resting periods correlate with movement data. At the beginning, while resting time is longer in painful animals, with the initiation of the treatment process, the rest decreases at 50 and 200 mg/ml MC doses.



**Figure 3.** Locomotor activity function test (distance traveled cm). \* P<0.05, \*\* P<0.001 compared to P control group.

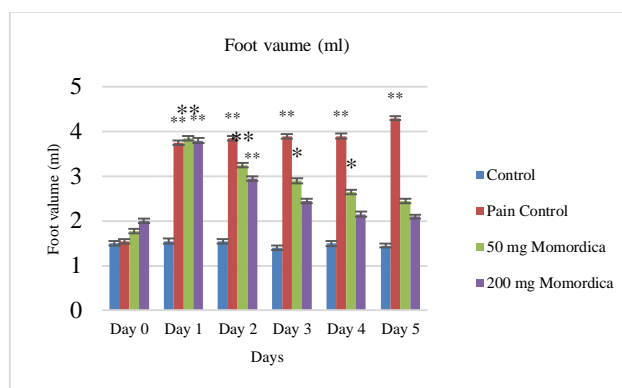


**Figure 4.** Locomotor activity function test (Resting time in second). \* P<0.05, \*\* P<0.001 compared to control group.

**The inflammation result:**

As a result of the administration of normal saline to the control group and FA to the other groups, an increase in foot volumes was observed. Although the foot volume in our control group decreased rapidly from the 2<sup>nd</sup> day to 7<sup>th</sup> day, the foot volume in the positive control group gradually increased and swelling continued to be seen at the end of the 7th day (Fig. 5). In our treatment groups, as a result of the treatment applied for 5 days after FA application, a

decrease in foot volume occurred from the 4<sup>th</sup> day. However, at the end of the 7<sup>th</sup> day in high concentration, it was found that the swelling was greatly reduced (Fig. 5).



**Figure 5.** Inflammation test Foot total volume (ml). \* P<0.05, \*\* P<0.001 compared to P control group.

**DISCUSSION**

Hind paw injection of formaldehyde is a model used to assess persistent pain and evaluate analgesic drugs in laboratory animals. A solution of formaldehyde is injected subcutaneously into hind paw. Formaldehyde causes cell death when it comes into contact with tissues. MC is known to be a plant with antioxidant, analgesic and anti-inflammatory effects. The aim of our study is to investigate how low and high doses of MC plant affect foot inflammation and what effect they have on the animal's behavior.

In a study conducted by Raish M. et al, the mechanism of action of MC against gastric ulcer caused by ethanol in rats was investigated. Macroscopic changes, lipid peroxidation, antioxidant activity, apoptosis (caspase 3, Bax, and Bcl-2) and inflammation (tumor necrosis factor- $\alpha$  [TNF- $\alpha$ ], interleukin-6 [IL-6], and myeloperoxidase [MPO]) markers were examined to determine the effect of *M. charantia*. The study showed that the prophylactic administration of MC reduced ethanol-induced gastric damage in rats through suppression of gastroenteritis and oxidative stress (Raish et al., 2018). In our study, it was observed that MC removed the inflammation in the feet in a short time. The effect of MC by reducing inflammation markers may be the mechanism that explains the elimination of inflammation in the feet in our study.

Jain V. et al. (2014) investigated the anti-nociceptive and anti-allodynic effects of MCL. In neuropathic pain caused by tibial and sural nerve transection (TST) in rats. As a result of the study, it was observed that the administration of MC (200, 400 and 800 mg / kg) for 24 days significantly reduced TST-induced behavioral changes such as cold, mechanical and heat hyperalgesia, dynamic mechanical allodynia and cold

allodynia. MC also significantly weakened TFI (tibial function index). In addition, MC treatment also prevented TST-induced increase in nerve tissue TNF-alpha and TBARS levels (Jain et al., 2014). This study correlates with our study. According to our results, mobility decreased significantly after formaldehyde injection in all groups except the control group. However, movement started to improve in our treatment groups from the 2nd day. In the 200 mg/ml MC group, his mobility became almost equal to his basal level. TNF-alpha is a prototype pro-inflammatory mediator (Kang et al., 2006). The role of TNF-alpha has been well documented in peripheral as well as central sensitization in neuropathic pain (Leung & Cahill, 2010). In addition, the decrease in TNF alpha level may be one of the possible mechanisms of our study.

It was reported in previous studies that MC alleviates diabetic neuropathy. These results show that MC has potent neuro-protective activity against global cerebral ischemia-reperfusion-induced neuronal damage and its neurological deficits in diabetic mice (Malik et al., 2011). MC has also been shown to exhibit anti-inflammatory activity in acid-induced inflammatory visceral pain in mice (Choi et al., 2002). Additionally, the effects of MC in reducing pain in patients with primary knee osteoarthritis have been studied. Thirty-eight and thirty-seven primary knee osteoarthritis patients underwent MC and placebo supplements for 3 months, respectively. It has been determined that MC supplementation provides significant pain reduction, improvement in symptoms, daily activities and quality of life. Additionally, it reduced analgesia intake and had no significant adverse effects (Soo May et al., 2018). Similarly, in our study, the pain threshold of control group was measured as 48.75 on the 1st day, while the result on the 7<sup>th</sup> day was measured as 46.5. However, in our positive control group (FA (37% solution)), there is a 17.5 difference between the initial and last day results. In our treatment group (200 mg/ml MC group results), the pain threshold increased from 43.5 to 56.25 and the pain sensation disappeared completely. This shows that MC is a substance with high analgesic activity.

## CONCLUSION

Injection of formaldehyde subcutaneously into hind paw cause persistent pain and local inflammation. It has been determined that MC supplementation provides significant pain reduction, improvement in symptoms, daily activities and quality of life. Our experiment shows that MC has high analgesic activity but for detection exact mechanism of action we need to future experiment and in vivo research.

## REFERENCES

- Alam, M.A., Uddin, R., Subhan, N., Rahman, M.M., Jain, P. & Reza, H.M. (2015).** Beneficial role of bitter melon supplementation in obesity and related complications in metabolic syndrome. *Journal of Lipids*, 496169.
- Azhdari-Zarmehri, H., Esmaeili, M.H., Sofiabadi, M. & Haghdoost-Yazdi, H. (2013).** Orexin receptor type-1 antagonist SB-334867 decreases morphine-induced antinociceptive effect in formalin test. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, *112*, 64-70.
- Bao, B., Chen, Y.G., Zhang, L., Na Xu, Y.L., Wang, X., Liu, J. & Qu, W. (2013).** Momordica charantia (Bitter Melon) reduces obesity-associated macrophage and mast cell infiltration as well as inflammatory cytokine expression in adipose tissues. *Plos One*, *8*, e84075.
- Biswas, S.K. (2016).** Does the Interdependence between Oxidative Stress and Inflammation Explain the Antioxidant Paradox? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 5698931.
- Chao, C.Y., Sung, P.J., Wang, W.H. & Kuo, Y.H. (2014).** Anti-inflammatory effect of Momordica charantia in sepsis mice. *Molecules*, *19*, 12777-12788.
- Cheney, J.E. & Collins, C.H. (1995).** Formaldehyde disinfection in laboratories: limitations and hazards. *British Journal of Biomedical Science*, *52*, 195-201.
- Cheng, H.L., Kuo, C.Y., Liao, Y.W. & Lin, C.C. (2012).** EMCD, a hypoglycemic triterpene isolated from Momordica charantia wild variant, attenuates TNF-alpha-induced inflammation in FL83B cells in an AMP-activated protein kinase-independent manner. *European Journal of Pharmacology*, *689*, 241-248.
- Choi, J., Lee, K.T., Jung, H., Park, H.S. & Park, H.J. (2002).** Anti-rheumatoid arthritis effect of the Kochia scoparia fruits and activity comparison of momordin Ic, its prosapogenin and sapogenin. *Archives of Pharmacal Research*, *25*, 336-342.
- Coderre, T.J. & Melzack, R. (1992).** The role of NMDA receptor-operated calcium channels in persistent nociception after formalin-induced tissue injury. *Journal of Neuroscience*, *12*, 3671-3675.
- Erami, E., Azhdari-Zarmehri, H., Ghasemi-Dashkhasan, E., Esmaeili, M.H. & Semnani, S. (2012).** Intra-paragigantocellularis lateralis injection of orexin-A has an antinociceptive effect on hot plate and formalin tests in rat. *Brain Research*, *1478*, 16-23.
- Çelik, A.D., Gümüşkaya, E., Kırıcı, H. & Erişir, E. (2019).** The Oxidative Pretreatments of Cellulose for Cellulosic Superabsorbents. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, *4*(4), 657-661. DOI: [10.35229/jaes.641313](https://doi.org/10.35229/jaes.641313)
- Gheibi, N., Saroukhani, M. & Azhdari-Zarmehri, H. (2013).** The effect of food deprivation on nociception in formalin test and plasma levels of

noradrenaline and corticosterone in rats. *Basic and Clinical Neuroscience*, **4**, 341-347.

- Grover, J.K. & Yadav, S.P. (2004).** Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, **93**, 123-132.
- Hacimuftuoglu, A., Mohammadzadeh, M., Taghizadehghalehjoughi, A., Taspinar, N., Togar, B., Nalci, K.A., Okkay, U. & Gundogdu, B. (2020).** The analgesic effect of metformin on paclitaxel-induced neuropathic pain model in rats: By considering pathological results. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, **16**, 34-39.
- Hsu, C., Fang, S., Lju, C. & Chen, Y. (2013).** Inhibitory effects of new varieties of bitter melon on lipopolysaccharide-stimulated inflammatory response in RAW 264.7 cells. *Journal of Functional Foods*, **5**, 1829-1837.
- Hunskar, S. & Hole, K. (1987).** The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, **30**, 103-114.
- Jain, V., Pareek, A., Paliwal, N., Ratan, Y., Jaggi, A.S. & Singh, N. (2014).** Antinociceptive and antiallodynic effects of *Momordica charantia* L. in tibial and sural nerve transection-induced neuropathic pain in rats. *Nutritional Neuroscience*, **17**, 88-96.
- Kang, Y.M., Zhang, Z.H., Johnson, R.F., Yu, Y., Beltz, T., Johnson, A.K., Weiss, R.M. & Felder, R.B. (2006).** Novel effect of mineralocorticoid receptor antagonism to reduce proinflammatory cytokines and hypothalamic activation in rats with ischemia-induced heart failure. *Circulation Research*, **99**, 758-766.
- Kobori, M., Nakayama, H., Fukushima, K., Ohnishi-Kameyama, M., Ono, H., Fukushima, T., Akimoto, Y., Masumoto, S., Yukizaki, C., Hoshi, Y., Deguchi, T. & Yoshida, M., (2008a).** Bitter gourd suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory responses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**, 4004-4011.
- Kobori, M., Ohnishi-Kameyama, M., Akimoto, Y., Yukizaki, C. & Yoshida, M. (2008b).** Alpha-eleostearic acid and its dihydroxy derivative are major apoptosis-inducing components of bitter gourd. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**, 10515-10520.
- Leung, L. & Cahill, C.M. (2010).** TNF-alpha and neuropathic pain--a review. *Journal of Neuroinflammation*, **7**, 27.
- Lii, C.K., Chen, H.W., Yun, W.T. & Liu, K.L. (2009).** Suppressive effects of wild bitter gourd (*Momordica charantia* Linn. var. *abbreviata* ser.) fruit extracts on inflammatory responses in RAW264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, **122**, 227-233.
- Malik, Z.A., Singh, M. & Sharma, P.L. (2011).** Neuroprotective effect of *Momordica charantia* in global cerebral ischemia and reperfusion induced neuronal damage in diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **133**, 729-734.
- Minihane, A.M., Vinoy, S., Russell, W.R., Baka, A., Roche, H.M., Tuohy, K.M., Teeling, J.L., Blaak, E.E., Fenech, M., Vauzour, D., McArdle, H.J., Kremer, B.H., Sterkman, L., Vafeiadou, K., Benedetti, M.M., Williams, C.M. & Calder, P.C. (2015).** Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *British Journal of Nutrition*, **114**, 999-1012.
- Moseley, G.L. & Flor, H. (2012).** Targeting cortical representations in the treatment of chronic pain: a review. *Neurorehabil Neural Repair*, **26**, 646-652.
- Nilsson, J.A., Zheng, X., Sundqvist, K., Liu, Y., Atzori, L., Elfving, A., Arvidson, K. & Grafstrom, R.C. (1998).** Toxicity of formaldehyde to human oral fibroblasts and epithelial cells: influences of culture conditions and role of thiol status. *Journal of Dental Research*, **77**, 1896-1903.
- Ozen, O.A., Akpolat, N., Songur, A., Kus, I., Zararsiz, I., Ozacmak, V.H. & Sarsilmaz, M., (2005).** Effect of formaldehyde inhalation on Hsp70 in seminiferous tubules of rat testes: an immunohistochemical study. *Toxicology and Industrial Health*, **21**, 249-254.
- Polito, L., Bortolotti, M., Maiello, S., Battelli, M.G. & Bolognesi, A. (2016).** Plants Producing Ribosome-Inactivating Proteins in Traditional Medicine. *Molecules*, **21**, 1560, 1-27.
- Raish, M., Ahmad, A., Ansari, M.A., Alkharfy, K.M., Aljanoobi, F.I., Jan, B.L., Al-Mohizea, A.M., Khan, A. & Ali, N. (2018).** *Momordica charantia* polysaccharides ameliorate oxidative stress, inflammation, and apoptosis in ethanol-induced gastritis in mucosa through NF-kB signaling pathway inhibition. *International Journal of Biological Macromolecules*, **111**, 193-199.
- Raja, S.N., Carr, D.B., Cohen, M., Finnerup, N.B., Flor, H., Gibson, S., Keefe, F.J., Mogil, J.S., Ringkamp, M., Sluka, K.A., Song, X.J., Stevens, B., Sullivan, M.D., Tutelman, P.R., Ushida, T. & Vader, K. (2020).** The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, **161**(9), 1976-1982.
- Randall, L.O. & Selitto, J.J. (1957).** A method for measurement of analgesic activity on inflamed tissue. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, **111**, 409-419.
- Restani, P. & Galli, C.L. (1991).** Oral toxicity of formaldehyde and its derivatives. *Critical Reviews in Toxicology*, **21**, 315-328.
- Scartezzini, P. & Speroni, E. (2000).** Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **71**, 23-43.
- Schug, S.A. & Goddard, C. (2014).** Recent advances in the pharmacological management of acute and

- chronic pain. *Annals of Palliative Medicine*, **3**, 263-275.
- Smolen, J.S., Landewe, R., Breedveld, F.C., Dougados, M., Emery, P., Gaujoux-Viala, C., Gorter, S., Knevel, R., Nam, J., Schoels, M., Aletaha, D., Buch, M., Gossec, L., Huizinga, T., Bijlsma, J.W., Burmester, G., Combe, B., Cutolo, M., Gabay, C., Gomez-Reino, J., Kouloumas, M., Kvien, T.K., Martin-Mola, E., McInnes, I., Pavelka, K., van Riel, P., Scholte, M., Scott, D.L., Sokka, T., Valesini, G., van Vollenhoven, R., Winthrop, K.L., Wong, J., Zink, A. & van der Heijde, D. (2010).** EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **69**, 964-975.
- Songur, A., Ozen, O.A. & Sarsilmaz, M. (2010).** The toxic effects of formaldehyde on the nervous system. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **203**, 105-118.
- Songur, A., Sarsilmaz, M., Ozen, O., Sahin, S., Koken, R., Zararsiz, I. & Ilhan, N. (2008).** The effects of inhaled formaldehyde on oxidant and antioxidant systems of rat cerebellum during the postnatal development process. *Toxicology Mechanisms and Methods*, **18**, 569-574.
- Soo May, L., Sanip, Z., Ahmed Shokri, A., Abdul Kadir, A. & Md Lazin, M.R. (2018).** The effects of *Momordica charantia* (bitter melon) supplementation in patients with primary knee osteoarthritis: A single-blinded, randomized controlled trial. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, **32**, 181-186.
- Sturman, O., Germain, P.L. & Bohacek, J. (2018).** Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. *Stress*, **21**, 443-452.
- Thrasher, J.D. & Kilburn, K.H. (2001).** Embryo toxicity and teratogenicity of formaldehyde. *Archives of Environmental & Occupational Health*, **56**, 300-311.
- Williams, A.C., Eccleston, C. & Morley, S. (2012).** Psychological therapies for the management of chronic pain (excluding headache) in adults. *Cochrane Library: Cochrane Reviews*, **11**, CD007407.
- Xu, J., Cao, K., Li, Y., Zou, X., Chen, C., Szeto, I.M., Dong, Z., Zhao, Y., Shi, Y., Wang, J., Liu, J. & Feng, Z. (2014).** Bitter gourd inhibits the development of obesity-associated fatty liver in C57BL/6 mice fed a high-fat diet. *Journal of Nutrition*, **144**, 475-483.
- Yang, W.S., Yang, E., Kim, M.J., Jeong, D., Yoon, D.H., Sung, G.H., Lee, S., Yoo, B.C., Yeo, S.G. & Cho, J.Y. (2018).** *Momordica charantia* inhibits inflammatory responses in murine macrophages via suppression of TAK1. *The American Journal of Chinese Medicine*, **46**, 435-452.
- Zararsiz, I., Kus, I., Akpolat, N., Songur, A., Ogeturk, M. & Sarsilmaz, M. (2006).** Protective effects of omega-3 essential fatty acids against formaldehyde-induced neuronal damage in prefrontal cortex of rats. *Cell Biochemistry and Function*, **24**, 237-244.
- Zararsiz, I., Kus, I., Ogeturk, M., Akpolat, N., Kose, E., Meydan, S. & Sarsilmaz, M. (2007).** Melatonin prevents formaldehyde-induced neurotoxicity in prefrontal cortex of rats: an immunohistochemical and biochemical study. *Cell Biochemistry and Function*, **25**, 413-418.
- Zhang, F., Lin, L. & Xie, J. (2016).** A mini-review of chemical and biological properties of polysaccharides from *Momordica charantia*. *International Journal of Biological Macromolecules*, **92**, 246-253.



## Akarçay Akarsuyu (Afyonkarahisar) Su Kalitesi ve Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesi

Numan Emre GÜMÜŞ\*

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar ve Uygulamalar Merkezi, Karaman, Türkiye

Geliş Tarihi: 11 Aralık 2020

Kabul Tarihi: 19 Şubat 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atıf yapmak için: Gümüş, N.E. (2021). Akarçay Akarsuyu (Afyonkarahisar) Su Kalitesi Ve Ağır Metal Kirliliğinin Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 120-127.

How to cite: Gümüş, N.E. (2021). Determination Of Water Quality And Heavy Metal Pollution Of Akarçay Stream (Afyonkarahisar). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 120-127.

\*ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8275-3871>

**\*Sorumlu yazarın:**

Numan Emre GÜMÜŞ  
Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi,  
Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar ve  
Uygulamalar Merkezi, Karaman, Türkiye.  
✉: [numanemregumus@kmu.edu.tr](mailto:numanemregumus@kmu.edu.tr)

**Öz:** Akarçay Havzası sanayi ve tarımsal faaliyetler ile evsel atık suların yoğun baskısı altındadır. Havzaya adını veren Akarçay Akarsuyu' da bu antropojenik etkilere maruz kalmaktadır. Bu sebeple Akarçay da üç farklı istasyondan Nisan-2019 ile Mart-2020 arasında mevsimsel olarak alınan su örneklerinde bazı fizikokimyasal ve ağır metal parametreleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Pearson Korelasyon İndeks (PCI) istatistik metodu ile değerlendirilmiştir. PCI analizine göre Akarçay Akarsuyunda fizikokimyasal ve ağır metaller birbirleriyle pozitif ve negatif korelasyon göstermiştir. Bulunan sonuçlar ulusal ve uluslararası kalite kriterlerinde yer alan limit değerleri karşılaştırılmıştır. Ölçülen ortalama ağır metal (Co, Mo, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) değerlerinin hepsi I. kalite su sınıfı içerisinde yer almaktadır. Mangan ve nikelin ölçülen maksimum değerleri ise Su Kalitesi Kontrol Yönetmeliğine (SKKY) göre II. kalite su sınıfındadır. Akarçay Akarsuyu fizikokimyasal parametreleri, SKKY' ye göre III-IV. sınıf arasında değişim göstermektedir.

**Anahtar kelimeler:** Ağır metal, akarçay akarsuyu, PCI, su kalitesi.

## Determination of Water Quality and Heavy Metal Pollution of Akarçay Stream (Afyonkarahisar)

**Abstract:** Akarçay Basin is under excessive pressure from industrial and agricultural activities and domestic wastewater. Akarçay Stream, which gives the basin its name, is also exposed to these anthropogenic effects. For this reason, some physicochemical and heavy metal parameters were examined in the water samples taken seasonally between April-2019 and March-2020 from three different stations in the Akarçay Stream. Pearson Correlation Index statistical methods were used during the evaluation of the obtained results. According to PCI, physicochemical and heavy metal parameters showed positive and negative correlation with each other in Akarçay Stream. The obtained results have been compared to the limit values included within the national and international quality criteria. All of the measured average heavy metal (Co, Mo, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) values are within the I. quality water class according to the Water Quality Control Regulation (WPCR). The measured maximum values of manganese and nickel are in II. quality water class according to WPCR. The physicochemical parameters in Akarçay Stream was found to be class III-IV according to WPCR.

**\*Corresponding author's:**

Numan Emre GÜMÜŞ  
Karamanoğlu Mehmetbey University,  
Scientific and Technological Research and  
Applications Center, Karaman, Turkey  
✉: [numanemregumus@kmu.edu.tr](mailto:numanemregumus@kmu.edu.tr)

**Keywords:** Heavy metal, akarçay stream, PCI, water quality.



## GİRİş

Dünya nüfusunun hızlı artışına paralel olarak endüstrileşme birçok çevre sorununa neden olmuş ve tatlı su kaynaklarının kalitesini düşürmüştür. Su kirliliği ve temiz su kaynaklarına erişim eksikliği insanlık için neredeyse sınırlayıcı bir faktör haline gelmiştir. Lotik ekosistemler, endüstriyel ve belediye atık sularının taşınması ve tarım alanlarından su akışındaki rolleri nedeniyle kirliliğe karşı en savunmasız tatlı su kütleleri arasındadır. Sulak alanlarda su kirliliği kontrolü, su kalitesi yönetimi için gerekli olup suyun varlığı kadar kalitesi de büyük önem taşımaktadır (Karadavut vd., 2011; Varol, 2020). Su kalitesi yönetimi için çok sayıda su kalitesi parametresinin değerlendirilmesi ve etkili bir kirlilik kontrolü gereklidir (Köse vd., 2014; Tokatlı, 2015). Su kaynaklarının beslediği ekosistemlerin korunması ve kontrol altına alınması, ekolojik dengenin sürekliliği ve su kaynaklarından verimli bir şekilde faydalanmak için, belirli dönemlerde tekrarlanmak suretiyle su kalitesi izlenmeli ve kirlilik değişimini etkileyen önemli faktörlerin tanımlanması ve uygun tedbirlerin alınması sağlanmalıdır (Cüce vd., 2020; Kalıpci vd., 2017a; Karadavut vd., 2012). Özellikle; içme ve kullanma suyu olarak yararlanılan akarsu, baraj ve göllerin çevresindeki noktasal ve noktasal olmayan kirletici kaynaklar kontrol altına alınmalıdır (Kalıpci vd., 2017b).

Ülkemizin ekonomik büyüme hızı son yıllarda artış gösterirken zirai faaliyetler, sanayileşme, nüfus artışı ile beraber şehirleşme de giderek yaşamı olumsuz etkilemeye başlamıştır. Bu durum tüm doğal kaynaklarda olduğu gibi başta su kaynaklarının aşırı kullanımı, bırakılan katı, sıvı ve gaz atıklardan dolayı kirlenmeyi de beraberinde getirmektedir. Bu yüzden gerek denizlerimiz gerekse tatlı sularımız ve yer altı sularımızın önemli ölçüde kirlilikten etkilenmektedir. Dolayısıyla kolaylıkla çevresel kirlilikten etkilenebilen su kaynaklarının su kalite düzeylerinin kontrol altında tutulması ve izlenmesi ön plana çıkmaktadır (Verap vd., 2017).

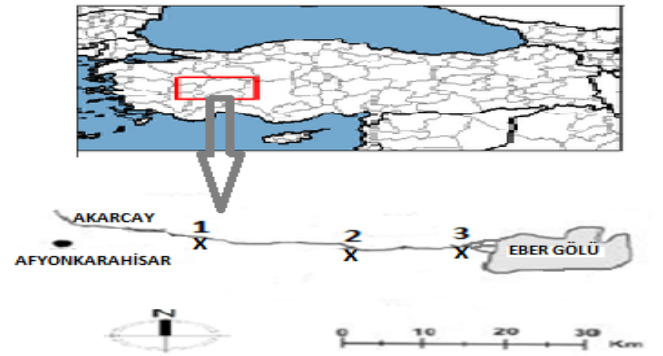
Akarçay eskiden halk arasında içme suyu olarak kullanılmasına rağmen günümüzde birçok yerleşim merkezi, termal tesis ve tarımsal alanlardan geçtikten sonra su kalitesi gittikçe kötüleşmektedir (Kargioğlu vd., 2012). Afyonkarahisar kanalizasyonu, tarım alanlarının kirleticileri ve organize sanayi atıklarına maruz kalmaktadır. Atıksular büyük ölçüde arıtılmamakta ya da arıtmada yetersiz kalmaktadır. Akarçay Türkiye su kalitesi kontrol yönetmeliğine (SKKY) göre IV. Sınıf kalitede suya sahiptir (DKMPGM, 2008).

Akarçay Akarsu'ndaki akış rejiminin düzensizliği ve debinin düşüklüğünden dolayı evsel ve endüstriyel atıkların oluşturduğu kirlilik yükünün artması nedeniyle kirliliğin yaşam alanlarına olumsuz etkileri çok daha hızlı olmaktadır (Serteser ve ark., 2008). Bu çalışmada, yoğun

kirliliğe maruz bırakılan Akarçay suyunda bazı fizikokimyasal ve ağır metal parametrelerinin mevsimsel olarak araştırılması ulusal ve uluslararası su yönetmeliklerine göre değerlendirilerek kirlenme ile ilgili problemlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

**Çalışma alanı ve örnek alma noktaları:** Akarçay havzası batı-iç Anadolu'da bulunmaktadır. Havzaya adını veren Akarçay Akarsuyu 80 km uzunluğunda Eber gölüne dökülen Afyonkarahisar bölgesinin en önemli akarsuyudur (Burgan vd., 2013). Örnekler Nisan-2019 ile Mart-2020 arasında mevsimsel olarak toplanmıştır. Örnek alınan istasyonlar Eber Gölü girişi de olmak üzere 3 noktadan seçilmiştir. 1. İstasyon 38°41'3.64"K 30°46'30.8"D, 2. İstasyon 38°39'50.71"K 31° 0'57.46"D, 3. İstasyon 38°38'55.52"K 31° 5'12.64"D (göl girişi) koordinatlarındadır. İstasyonların Akarçay'ın üzerindeki konumları Şekil 1'de belirtilmiştir.



**Şekil 1.** Akarçay Akarsuyu örnek alınan istasyonlar.  
**Figure 1.** Sampling stations of Akarçay Stream.

**Fizikokimyasal Analizler:** İstasyonlardan alınan örneklerde pH, sıcaklık, iletkenlik ve çözülmüş oksijen değerleri arazide Hach Lange HQ40d cihazı ile ölçülmüştür. Numuneler; "Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği Numune Alma ve Analiz Metotları Tebliğine" uygun bir şekilde alınmış ve cam şişelerde, ışık almayacak biçimde, +4°C sıcaklıkta muhafaza edilerek laboratuvar ortamına taşınmıştır. Laboratuvarda aynı gün içerisinde su örneklerinde kimyasal oksijen ihtiyacı amonyum azotu, nitrit azotu, nitrat azotu, klorofil-a, toplam fosfat, klorür, toplam sertlik, sülfat ve renk değerleri kitler yardımıyla Hach Lange markalı spektrofotometre (DR 2800) ile ölçülmüştür. Bulanıklık değeri Hach Lange 2100AN cihazı ile ölçülmüştür. Askıda katı madde tayini APHA 1985' e ve klorofil-a Parsons & Strickland (1963)' e göre yapılmıştır. Ağır metal (Co, Mo, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) analizleri ICP-OES cihazı ile 3 tekrarlı çalışılmıştır. Ölçülen element konsantrasyonları UME EnvCRM 02 (Tubitak UME ) akarsuda elementler referans maddesinden elde

edilen element konsantrasyonları ile doğrulanarak kontrol edilmiştir. ICP-OES Agilent 720 marka cihaz RF gücü:1200W, dedektör: CCD, nebulizer gaz akış hızı:1.0 ml min<sup>-1</sup>, plazma gaz akış hızı: Argon(Ar) gazı, 15 ml min<sup>-1</sup> özelliklerine sahiptir.

Akarçay akarsuyunda sulama suyunu sınıflandırmak için Potansiyel Tuzluluk (PS), Toplam Sertlik (mg/L) ve Elektriksel İletkenlik (μS/cm) gibi sulama indeksleri kullanılarak hesaplanmış ve yorumlanmıştır.

Potansiyel Tuzluluk (PS), aşağıda ki formüle göre hesaplanmaktadır (Donenn, 1964; Özer ve Köklü, 2019)

$$PS = Cl^- + 0,5SO_4^{2-}$$

**İstatistiksel analizler:** Fizikokimyasal ve ağır metal parametrelerinin birbirleri arasında ki ilişkiyi değerlendirmek için Pearson Korelasyon İndeksi (PCI) SPSS 22 paket programı kullanılmıştır.

## BULGULAR

Akarçay suyundan mevsimsel olarak alınan fizikokimyasal ve ağır metal değerleri tespit edilmiştir. Fizikokimyasal ve ağır metallerin yıllık ortalama değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Akarçay suyunda mevsimsel olarak alınan örneklerde parametreler arasındaki ilişki Pearson Korelasyon analizi ile belirlenmiş ve Tablo 3' de belirtilmiştir Akarçay suyunun sonuçları SKKY (2015), TS 266 (2005), EPA (2009), EC (2015) ve WHO (2017) kalite değerleriyle kıyaslanmıştır (Tablo 2). Sulama suyu kalitesi potansiyel tuzluluk, toplam sertlik indeksi ve elektriksel iletkenlik indeksi gibi değerlendirme kriterleri kullanılarak yorumlanmıştır.

**Tablo 1.** Akarçay Akarsuyu fizikokimyasal ve ağır metal yıllık ortalama seviyeleri.

**Table 1.** Annual average levels of heavy metals and physicochemical of Akarçay Stream.

Parametre	Min	Max	Ort	Standart sapma	SKKY
Sıcaklık (°C)	11,5	27,8	16,95	6,11	
pH	7,61	8,65	8,05	0,32	
İletkenlik (μS/cm)	706	7120	2408	1792	III
Çözünmüş O <sub>2</sub> (mg/L)	<2	7,17			IV
Bulanıklık (NTU)	2,65	613	105,29	172,46	
Renk(Pt-Co)	18	418	110,54	118,27	III
AKM (mg/L)	6	930	149,27	285,33	
KOİ (mg/L)	36,1	185	110	59,21	IV
Klorür (Cl <sup>-</sup> ) (mg/L)	74,8	736	304,72	186	III
Sülfat (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> ) (mg/L)	87	286	135,4	58,18	III
Toplam Sertlik (°dH)	12,9	24,3	19,6	4,38	
Amonyum Azotu (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N) (mg/L)	0,17	20	5,6	7,23	IV
Nitrit Azotu (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N) (mg/L)	0,3	3,45	0,966	1,53	IV
Nitrat Azotu (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N) (mg/L)	0,5	17,4	3,83	6,58	I
Toplam fosfat (PO <sub>4</sub> ) (mg/L)	0,24	8,4	4,82	3,07	IV
Klorofil-a (mg/L)	1,2	550	92,75	163,7	
Kobalt (μg/l)	1	5	2	1	I
Molibden (μg/l)	1	4	3	1	
Bor (μg/l)	420	1710	932	479	I
Kadmiyum (μg/l)	000,4	000,8	000,6	000,1	I
Krom (μg/l)	0,06	10,6	2	3	I
Bakır (μg/l)	0	0,94	0,15	0,34	I
Demir (μg/l)	0	171,6	61,6	71,9	I
Mangan (μg/l)	9	178	49	64,9	I
Nikel (μg/l)	0	36	8,5	10,5	I
Kurşun (μg/l)	0	1	0,17	0,40	I
Selenyum (μg/l)	0	2,5	0,23	0,77	I
Çinko (μg/l)	0	50,7	13,9	11	I

Akarçay da çalışma süresince SKKY (2015) göre ölçülen sıcaklık, pH ve nitrat azotu değerleri I. Kalite, klorür, sülfat, renk ve iletkenlik değerleri III. Kalite, çözünmüş oksijen, KOİ, Amonyum azotu ve nitrit azotu IV. kalite su sınıfı içerisinde. Akarçay da nitrat azotunun I. kalitede nitrit ve amonyum azotunun IV. kalitede olduğundan dolayı Akarçay havzasında tarımsal kirliliğin değil evsel ve gıda kökenli endüstriyel kirliliğin etkili olduğu söylenebilir. Akarçay'da evsel ve endüstriyel atıkların fazla olması ile birlikte debisinin düşük olması çözünmüş oksijen değerlerinin düşük olmasını açıklamaktadır.

Akarçay da çalışma süresince ölçülen pH değerlerinin 7,61-8,65°C arasında değiştiği ve ortalama

pH'ın 8,05 olduğu belirlenmiştir. Bazı aylar pH değeri 8,5'un üzerine çıkarken genel olarak tüm yıl boyunca tüm istasyonlarda mevsimsel ortalama pH değerleri nötr ile hafif alkali olarak değerlendirilebilir. Ülkemizdeki diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur. Kızılırmak Nehri'nde 7,77-8,78 arasında (Bakan ve Cüce, 2007), Ergene Nehri'nde 7,33-8,17 arasında (Tokatlı, 2020), Yağlıdere Çayı'nda 6,96-8,57 arasında (Uncumusaoğlu & Akkan, 2017) ve Kozlu Deresi'nde 7,89-8,64 arasında (Zeydan vd., 2019) bulunmuştur.

Avrupa Birliği Komisyonu Tatlı sularda balık sağlığının korunması amacıyla bildirilen EC direktifine göre *Cyprinid* türleri için sudaki çözünmüş oksijen seviyesinin 4 mg/L'nin altına düşmemesi gerekmektedir

(EC, 2015). Kış mevsimi haricinde çözünmüş oksijen değerleri 4 mg/L'nin çok altında bulunmuştur. Bu durum, ekolojik toleransı geniş ve ekstrem şartlara dayanıklı birkaç omurgasız ve alg türleri dışında, Akarçay da balık gibi yüksek yapılı omurgalı canlıların yaşayabilmesine imkan vermemektedir (Tokatlı, 2020).

Buharlaşmanın çok yağışın az olduğu mevsimlerde klorür değerleri daha yüksek bulunmuştur. Elektriksel iletkenlik ve klorür değerlerinin yüksek oluşu bulduğumuz sonuçları doğrulamaktadır.

**Tablo 2.** Ulusal ve uluslararası bazı su yönetmeliklerine göre kalite standartları.

**Table 2.** Quality standards according to some national and international water regulations.

SKKY	I	II	III	IV	TS 266	EC	WHO	EPA
Sıcaklık (°C)	25	25	30	> 30	-	-	-	-
pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6,0-9,0	<6,0-9,0 >	6,5-9,2	6,5-9,5	6,5-8,8	6,5-8,5
İletkenlik (µS/cm)	-	-	-	-	2500	2500	-	-
Çöz O <sub>2</sub> (mg/L)	8	6	3	< 3	-	-	-	-
AKM	-	-	-	-	5	-	-	5
Bulanıklık (NTU)	-	-	-	-	5	-	5	-
Renk (Pt-Co)	5	50	300	>300	20	-	15	15
KOİ (mg/L)	25	50	70	>70	-	-	-	-
Cl(mg/l)	25	200	400	> 400	250	250	250	250
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> (mg/l)	200	200	400	> 400	250	250	250	250
PO <sub>4</sub> -P (mg/l)	<0,03	0,16	0,65	>0,65	-	-	-	-
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N(mg/l)	0,2	1	2	> 2	0,5	0,3	-	-
NO <sub>2</sub> -N(mg/l)	0,002	0,01	0,05	> 0,05	0,5	0,5	0,2	-
NO <sub>3</sub> -N(mg/l)	5	10	20	> 20	50	50	50	45
Bakır (µg/l)	≤20	50	200	>200	2000	2000	2000	1300
Bor (µg/l)	<1000	<1000	<1000	>1000	-	-	500	-
Çinko (µg/l)	200	500	2000	>2000	-	-	-	5000
Demir (µg/l)	300	1000	5000	>5000	200	200	300	300
Kadmiyum (µg/l)	3	5	10	>10	5	-	3	5
Kobalt (µg/l)	10	20	200	>200	-	-	-	-
Krom (µg/l)	≤20	50	200	>200	50	-	50	100
Kurşun(µg/l)	10	20	50	>50	10	-	10	15
Mangan (µg/l)	100	500	3000	>3000	50	-	400	50
Nikel (µg/l)	≤20	50	200	>200	20	20	70	-
Selenyum(µg/l)	10	10	20	>20	10	-	10	50

Suların yakın zamanda kirlendiğini gösteren en önemli göstergelerden biri amonyum azotunun beklenmedik şekilde artmasıdır (Gümüş & Akköz, 2020). Yaptığımız çalışmada Akarçay'da amonyum azotu ve nitrit azotu yıllık ortalaması (5,6-0,96 mg/L) SKKY (2015)' ye göre IV. sınıftadır. Akarçay Akarsu'unda yapılan önceki çalışmalarda Kıvrak ve ark. (2013) ile Burgan vd. (2013) bulduğumuz değerlere yakın değerler bulmuşlardır. Nitrat azotunun ortalama yıllık değeri (3,83 mg/L) TSE (2005), EC (2015), WHO (2017) ve EPA (2009) kriterlerini aşmamıştır. SKKY (2015)' ye göre I. sınıftadır.

Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) özellikle tatlı ve deniz sularında kirliliğin bir göstergesidir. KOİ ile kuvvetli kimyasal oksitleyicilerle, doğal ve kirlenici organik maddelerin parçalanması için gerekli olan oksijen miktarı saptanabilmektedir. (Egemen, 2011). Mikrobiyal kirlenmeyle birlikte organik maddelerin bozunma hızı artar. Bu sebeple çözünmüş oksijen değerleri düşer ve KOİ değerleri artar. Bu sonuç Akarçay da kışın azalan KOİ miktarını açıklamaktadır. Kıvrak vd. (2012) Akarçay'da ortalama KOİ değerini 91 mg/L tespit etmişlerdir. Çalışmamızın değerleri bu çalışmayla paralellik göstermektedir.

Bütün doğal sularda bulunmakla birlikte, klorür tuzlarının fazla çözünürlüğe sahip olması nedeniyle normal

ve kirlili sularda en çok bulunan iyonlardandır. Normal sularda 1 mg/L' den birkaç bin mg/L' ye kadar rastlanılabılır. Sularda ani bir klorür konsantrasyonu yüksekliği suyun endüstriyel kaynaklı bir kirlilik ile karıştığının düşünülmesine neden olur (Güler & Çobanoğlu, 1997). Çalışmamızda ortalama klorür değeri 304 mg/L bulunmuştur. Akarçay Akarsu'yunda suyunda klorür değerleri SKKY (2015) kriterine göre kışın tüm istasyonlarda II. kalitede yazın beşinci istasyonda IV. kalite de diğer mevsimlerde tüm istasyonlarda III. kalitede bulunmuştur. Klorür değeri TSE (2005), EC (2015), WHO (2017) ve EPA (2009) kriterlerine göre yaz ve sonbahar mevsiminde tüm istasyonlarda sınır değerini aşmıştır.

Sülfat suya yağmur aracılığıyla sülfatlı sedimanlardan geçer. Yüzey sularında sülfat az bulunur (Tanyolaç, 2010). Akarçay suyunda ortalama sülfat değeri 135 mg/L' dir. Burgan vd. (2013) Akarçay'da yaptıkları çalışmada sülfat değerlerini SKKY (2015) göre I. kalitede bulmuştur. Bulduğumuz değerler Sülfat değerlerinin SKKY (2015) göre I. kalitede olsa bile diğer çalışmalara göre yüksek çıkması Akarçay çevresinde yapılan yoğun zirai faaliyetlerin neticesi olabilir.

Yaptığımız çalışmada askıda katı madde Akarçay Akarsuyunda ortalama 147,29 mg/L olarak bulunmuştur. Askıda katı madde ve bulanıklık değerleri tüm mevsim ve

istasyonlarda TSE (2005) ve WHO (2017) kriterini aşmıştır. Tüm planktonik alglerin kuru ağırlığının % 1-2' lik kısmını oluşturması nedeniyle, alg biyomasi ölçümlerinde bir gösterge olarak değerlendirilir (Egemen, 2011). Gündoğdu & Çarlı (2020) Sinop Karasu Çayı suyunda AKM değerini ortalama 0,150 mg/L olarak bulmuşlardır. Çalışmamızda AKM değerleri literatür çalışmalarına göre daha yüksek değerlerde bulunması evsel ve endüstriyel kirli suların nehre deşarjlarından meydana gelebilir. Yüzeysel sularında bulunan tarımsal ve evsel atıklar çözünmüş maddelerin yoğunluğu, planktonların aşırı çoğalması ve yoğunluğunu arttırarak bulanıklık, renk, askıda katı madde ve klorofil-a değerlerini sınır değerlerinin çok üstünde arttırmıştır.

Fosfat su ortamına doğal yollarla girebildiği gibi, yapay gübrelerden ve endüstriyel atıklardan da geçebilmektedir. Sucul ekosistemlerde fosfatın aşırı bulunması neticesinde algler çoğalır ve sulara koku ve tat sorunlarına neden olabilir (Güler & Çobanoğlu, 1997). SKKY (2015) göre ölçülen toplam fosfat değeri kışın 2. istasyon hariç tüm değerlerde IV. kalite su sınıfı içerisinde yer almaktadır. Akarçay Akarsuyunda yapılan önceki çalışmalarda Kıvrak ve ark. (2013) ile Burgan ve ark. (2013) bulduğumuz değerlerle benzer değerler bulmuşlardır.

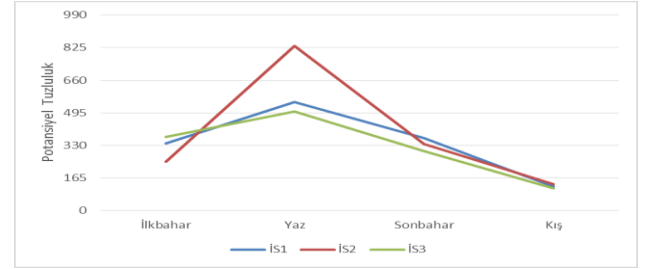
Akarçay da çalışma süresince ölçülen ortalama toplam sertlik değerleri 19,6 °dH olduğu tespit edilmiştir. Bu değer Klee, 1990' a göre 0-8 °dH aralığına sahip sular yumuşak sular olarak adlandırılırken, 8 °dH'den sonra sertlik özellikleri oluşmaktadır. Dolayısıyla Akarçay suyu çok sert su sınıfına girmektedir.

Ölçülen ortalama ağır metal (Co, Mo, B, Cd, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Zn) değerlerinin hepsi I. kalite su sınıfı içerisinde yer almaktadır. Yaz mevsiminde ölçülen mangan (178 µg/L) ve nikelin (36 µg/L) maksimum değerleri SKKY (2015)' e göre II. kalite su sınıfındadır. Mangan EPA (2009) nikel ise EC (2015) de belirtilen sınır değerleri aşmıştır. Arıman ve ark. (2007), çeşitli nehirlerde manganez ortalamalarını şu şekilde tespit etmişlerdir; Yeşilirmak'ta 91 µg/L, Abdal'da 134 µg/L, Mert'te 358 µg/L, Kürtün'de 206 µg/L, Engiz'de 928 µg/L ve Kızılırmak'ta 310 µg/L. Dalkıran ve ark., (2020) Mustafakemalpaşa Çayı suyunda yaptığı çalışmada maksimum mangan değerini 137 µg/L bulmuştur. Sönmez ve ark., (2012), Karasu Irmak suyunda nikel değerlerini SKKY 2015' göre II. Kalite sınıfında bulmuştur.

Potansiyel tuzluluk, sulama suyu kalitesinin belirlenmesinde kullanılan önemli bir parametredir. PS değerinin 165 ppm' den düşük olması sulama amaçlı kullanım için suyun uygun olduğunu göstermektedir (Özer & Köklü, 2019).

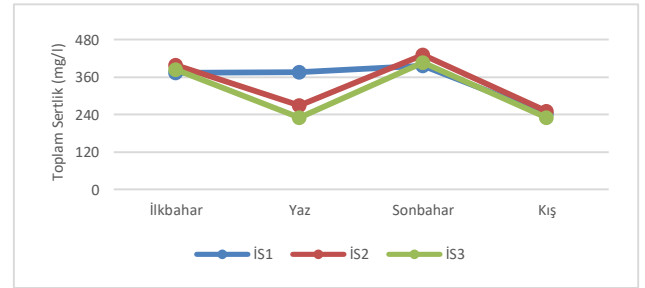
İstasyonlar için mevsimsel olarak hesaplanan PS değerleri, Kış mevsimi haricinde sulama suyu açısından uygun olmadığı belirlenmiştir.

Sulama sularının toplam sertlik konsantrasyonu <60 (mg/l) kadar yumuşak, 60-120 (mg/l) arası orta sert, 120-180(mg/l) arası sert, <180 (mg/l) üzeri ise çok sert su sınıfına girmektedir (Klee, 1990). Toplam sertlik bakımından suyun sınıflandırılması, verilerin hepsinin çok sert su tipinde olduğunu göstermektedir.



Şekil 2. Mevsimsel potansiyel tuzluluk değerleri.

Figure 2. Potential salinity of the seasonal values.

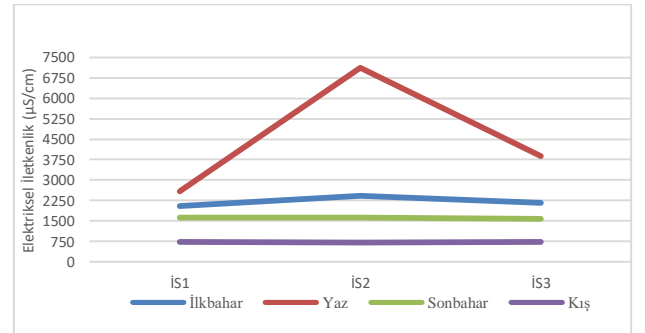


Şekil 3. Mevsimsel toplam sertlik değerleri.

Figure 3. Total hardness of the seasonal values.

Sulama sularının elektriksel iletkenlik indeksi 250-750 (µS/cm) arası iyi, 750-2000 (µS/cm) arası izin verilebilir, 2000-3000 (µS/cm) arası şüpheli, >3000 üzeri (µS/cm) üzeri ise sulama suyu açısından uygun görülmemektedir (Wilcox, 1955). Elektriksel iletkenlik bakımından suyun sınıflandırıldığı kış mevsiminde iyi, sonbahar mevsiminde izin verilebilir, ilkbahar ve yaz mevsimlerinde ise şüpheli ve uygun olmayan su sınıfına girdiği belirlenmiştir.

Bu da Akarçay'ın sulama suyu olarak kullanılmasının kurak dönemlerde tuzluluk tehlikesi oluşturduğunu göstermektedir.



Şekil 4. Mevsimsel elektriksel iletkenlik değerleri.

Figure 4. Electrical conductivity of the seasonal values.

Akarçay Akarsu sularında mevsimsel olarak alınan örneklerin tespit edilen ortalama fizikokimyasal ve ağır metal verileri arasında tespit edilen istatistiksel olarak anlamlı ilişkiler ve korelasyon katsayı değerleri Tablo 3’de verilmiştir.

Suda parametreler arasındaki ilişkiler 0,05 anlam seviyesinde ( $p < 0,05$ ), pH; Chl-a ile negatif yönde, sıcaklık; Ph, klorür, sülfat, nitrat azotu ve nikel ile pozitif yönde, iletkenlik; sülfat, amonyum azotu ve demir ile pozitif yönde, çözünmüş O<sub>2</sub>; toplam sertlik ile negatif yönde, Bulanıklık; Molibden ile negatif yönde, nitrat azotu ile pozitif yönde, AKM; klorür, nitrat azotu ve demir ile pozitif yönde, KOİ; Molibden ile negatif yönde, klorür; nitrat azotu ve kobalt ile pozitif yönde; sülfat; nikel ve krom ile pozitif yönde, molibden ile negatif yönde, toplam sertlik; renk ile pozitif yönde, amonyum Azotu; nikel ile pozitif yönde, toplam fosfat; demir ve renk ile pozitif yönde, kobalt ve molibden ile

negatif yönde, Chl-a; Mo ile negatif yönde, kobalt; nitrit azotu ile pozitif yönde, demir; Mangan, Nikel ve krom ile pozitif yönde korelasyon göstermektedir. 0,01 anlam seviyesinde ( $p < 0,01$ ) sıcaklık; amonyum azotu, nitrit azotu ve kobalt ile pozitif yönde, molibden ile negatif yönde, iletkenlik; akm, klorür, nitrit azotu, nitrat azotu, krom ve nikel ile pozitif yönde, bulanıklık; renk, sülfat ve Chl-a ile pozitif yönde, renk; sülfat ve Chl-a ile pozitif yön e, molibden ile negatif yönde, AKM; krom ve nikel ile pozitif yönde, KOİ; toplam fosfat, mangan ve kobalt ile pozitif yönde, klorür; amonyum azotu, nitrit azotu, krom ve nikel pozitif yönde, sülfat; nitrit azotu, nitrat azotu ve Chl-a ile pozitif yönde amonyum azotu; nitrit azotu ile pozitif yönde nitrit azotu; nitrat azotu ile pozitif yönde, toplam fosfat; mangan ile pozitif yönde, kobalt; molibden ile negatif yönde, krom; nikel ile pozitif yönde bakır; demir ile pozitif yönde korelasyon göstermektedir.

**Tablo 3.** Parametrelerin birbirleriyle olan ilişkisini gösteren Pearson Korelasyon Index tablosu.

**Table 3.** Pearson Correlation Index table showing the relationship between parameters.

	°C	pH	E.İ	ÇözO <sub>2</sub>	NTU	Renk	AKM	KOI	Klorür	Sülfat	T.S.	Amn	Nitrit	Nitrat	T.P	Chl-a	Co	Mo	Cr	Cu	Fe	Mn	Ni	
°C	1																							
pH	,011	1																						
E.İ	,690*	-,070	1																					
ÇözO <sub>2</sub>	-,400	-,230	-,467	1																				
NTU	,580	-,460	-,345	-,154	1																			
Renk	,525	-,503	,215	-,233	,928**	1																		
AKM	,360	-,235	,824**	-,202	-,027	-,094	1																	
KOI	,520	-,049	,210	-,453	,172	,453	,128	1																
Klorür	,730*	,158	,891**	-,610*	,133	,018	,732*	,261	1															
Sülfat	,673*	-,268	,681*	-,313	,890**	,738**	-,302	,097	,468	1														
T.S	-,272	,507	-,242	-,634*	-,485	-,299	-,246	,273	,020	-,447	1													
Amn	,776**	,430	,694*	-,276	,114	-,067	,463	,118	,829**	,394	-,177	1												
Nitrit	,951**	,079	,739**	-,299	,583	,425	,393	,255	,751**	,741**	-,390	,867**	1											
Nitrat	,641*	-,362	,864**	-,241	,682*	,477	,628*	-,029	,655*	,892**	-,552	,510	,741**	1										
T.P.	,523	-,139	,221	-,587	,355	,623*	,048	,918**	,236	,235	,271	,047	,273	,071	1									
Chl-a	,430	-,633*	,224	-,095	,927**	,903**	,017	,135	,029	,763**	-,475	-,060	,418	,587	,353	1								
Co	,788**	,103	,425	-,560	,208	,327	,294	,778**	,628*	,255	,198	,538	,608*	,203	,697*	,163	1							
Mo	-,852**	,374	-,509	,244	-,673*	-,745**	-,340	-,694*	-,455	-,622*	,364	-,396	-,718*	-,544	-,693*	-,650*	-,753**	1						
Cr	,577	-,217	,974**	-,319	,342	,206	,879**	,113	,792**	,664*	-,367	,580	,646*	,887**	,131	,264	,279	-,464	1					
Cu	,134	,165	,558	-,224	,007	,045	,462	,275	,296	,270	,014	,193	,147	,321	,225	-,151	-,025	-,082	,579	1				
Fe	,427	-,364	,695*	-,424	,393	,510	,617*	,586	,434	,527	-,101	,110	,319	,571	,625*	,356	,348	-,581	,724*	,736**	1			
Mn	-,034	-,327	-,030	-,326	,065	,392	,013	,738**	-,156	-,079	,332	-,470	-,294	-,171	,764**	,109	,247	-,291	-,021	,377	,648*	1		
Ni	,676*	-,143	,974**	-,311	,324	,214	,872**	,227	,824**	,635*	-,368	,673*	,723*	,843**	,217	,237	,398	-,554	,981**	,584	,725*	-,008	1	

\* korelasyon 0,05 seviyesinde önemli ( $p < 0,05$ ); \*\* korelasyon 0,01 seviyesinde önemli ( $p < 0,01$ ). °C:Sıcaklık E.İ: Elektriksel İletkenlik, Çöz. O<sub>2</sub>: Çözünmüş O<sub>2</sub>, NTU: Bulanıklık, AKM: Askıda katı madde, KOİ: Kimyasal oksijen ihtiyacı, T.S.: Toplam sertlik., Amn: Amonyum azotu, T.P.: Toplam fosfat, Chl-a: Klorofil-a.

## SONUÇ VE TARTIŞMA

Akarçay Akarsuyu su kalitesinin fizikokimyasal analiz sonuçları SKKY (2015)’ye göre çözünmüş oksijen, KOİ, amonyum azotu, nitrat azotu ve toplam fosfat IV. sınıf, iletkenlik renk, klorür, III. sınıf arasında değişmiştir. Toplam sertlik Klee (1990)’e göre çok sert su sınıfındadır. İletkenlik, klorür, sülfat, amonyum azotu ve nitrit azotu EC (2015) sınır değerini, bulanıklık, renk ve nitrit azotu WHO (2017) sınır değerini, AKM ve renk EPA (2009) sınır değerini, iletkenlik, bulanıklık, AKM, renk, amonyum azotu ve nitrit azotu TSS 266 (2015) sınır değerini aşmıştır. Ağır metal sonuçlarında sadece yaz mevsiminde maksimum tespit edilen mangan ve nikel SKKY (2015)’ e göre II. kalite iken diğer metaller hiç bir mevsimde ve istasyonda sınır değerlerini aşmamıştır. Tüm istasyonlar için sulama suyu Potansiyel Tuzluluk (PS), Toplam Sertlik (mg/L) ve Elektriksel İletkenlik ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) bakımından olumsuz bulunmuştur. Akarçay Havzasında tarımın yoğun olarak yapılması bilinçsiz tarım ilacı ve gübre kullanımı, Akarçay’ a yetersiz veya hiç artılmadan endüstri, evsel atık ve kaplıca sularının verilmesi ile sulama amaçlı tarım

arazilerine su çekilmesi su kirliliğinin esas nedenleri arasında gösterilebilir.

Sonuç olarak; Akarçay Havzasına adını da veren Akarçay’ın su kalitesini arttırmak, sucul ekosistem üzerindeki antropojenik baskıyı azaltmak ve çevresindeki halkın sağlığını korumak için; Akarçay Havzasında suyun yönetiminde bütüncül yaklaşıma ağırlık verilmeli, havzada sürdürülebilir tarım projelerinde su ve tarım bir bütün olarak ele alınmalı ve modern sulama tekniklerine geçilmeli, bilinçsiz tarım ilacı ve gübre kullanımının önüne geçilmeli, Fabrika atıkları düzenli artırmalı ve atık tesisleri düzenli denetlenerek tam kapasite çalışması sağlanmalı, Su kirliliğini en aza indirmek için bütün kurumların ve yöre halkının ortaklaşa uygulayabileceği etkin projeler üretilmesi gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- APHA. (1985). *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association, 16th ed. Washington: 40 p.
- Arıman, S., Cüce, H., Özbayrak, E., Bakan, G. & Büyükgüngör, H. (2007). Orta Karadeniz kıyı

- şeridi nehirleri su ve sediman ortamlarında ağır metal kirliliği izlenmesi. 7. *Ulusal Çevre Mühendisliği Kongresi, Yaşam Çevre Teknoloji 24-27 Ekim 2007*, İzmir, Türkiye.
- Bakan, G. & Cuce, H. (2007).** Water/sediment quality assessment and SOD studies in Kızılırmak River at the Black Sea coast of Turkey. *Fresenius Environmental Bulletin*, **16**(12A), 1544.
- Burgan, H.İ., İçağa, Y., Bostanoğlu, Y. & Kilit, M. (2013).** Akarçay Akarsuyu 2006-2011 Dönemi Su Kalite Eğilimi. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, **19**(3) 127-132. DOI: [10.5505/pajes.2013.46855](https://doi.org/10.5505/pajes.2013.46855)
- Cüce, H., Kalıpcı, E., Taç, B. & Yılmaz, M. (2020).** Rakım Farklılığı Nedeniyle Oluşan Meteorolojik Değişimlerin Su Kalitesine Olan Etkilerinin CBS ile Değerlendirilmesi: Morfolojik Olarak Farklı İki Göl için Bir Karşılaştırma. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi* **10**(1), 1-26. DOI: [10.31466/kfbd.649297](https://doi.org/10.31466/kfbd.649297)
- Dalkıran, N., Karacaoğlu, D., Taç, D., Karabayırlı, G., Atak, S., Arda Koşucu, T.N., Coşkun, F. & Akay, E. (2020).** Mustafakemalpaşa Çayı'nın (Bursa) su kalitesinin faktör analizi kullanılarak değerlendirilmesi. *Acta Aquatica Turcica*, **16**(1), 124-137. DOI: [10.22392/actaquatr.610888](https://doi.org/10.22392/actaquatr.610888)
- DKMPGM. (2008).** *Akşehir Eber gölleri sulak alan yönetim planı (2008-2012)*. T.C. Çevre ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü.
- Doneen, L.D. (1964),** *Notes on water quality in agriculture*. Department of Water Science and Engineering, University of California, Davis.
- EC. (2015).** *European Communities. Commission directive 2015 CD (EU) 2015/1787 of 6 October 2015 amending annexes II and III to council directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption*. European Council, Brussels, Belgium.
- EPA. (2009).** *United States Environmental Protection Agency. Edition of the drinking water standards and health advisories*; [Erişim Tarihi: 16 Ocak 2020]. Erişim Adresi <http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf>
- Egemen, Ö. (2011).** *Su kalitesi*. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yayın no:14, 6. baskı, 150s, Bornova-İzmir.
- Güler, İ. & Çobaoğlu, Z. (1997).** *Su kirliliği*. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, No: 43. 1. Baskı. 92 s. Ankara. ISBN 975-7572-60-8.
- Gümüş, N.E. & Akköz, C. (2020).** Eber Gölü (Afyonkarahisar) Su Kalitesinin Araştırılması. *LimnoFish*. **6**(2), 153-163. DOI: [10.17216/LimnoFish.638567](https://doi.org/10.17216/LimnoFish.638567)
- Gündoğdu, A. & Çarlı, U. (2020)** Sinop Karasu Çayı Fizikokimyasal Özellikleri ve Mikrobiyolojik Kirliliğinin Araştırılması. *MKU. Tar. Bil. Derg.* **25**(2), 284-299. DOI: [10.37908/mkutbd.690179](https://doi.org/10.37908/mkutbd.690179)
- Karadavut, I.S., Saydam, A.C., Kalıpcı, E., Karadavut, S. & Özdemir, C. (2011).** A Research For Water Pollution Of Melendiz Stream In Terms Of Sustainability Of Ecological Balance. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, **6**(1), 65-80.
- Karadavut, S., Delibas, L., Kalıpcı, E., Özdemir, C. & Karadavut, I.S. (2012).** Evaluation of irrigation water quality of Aksaray region by using geographic information system. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, **7**(2), 171-182.
- Kargoğlu, M., Serteser, A., Kıvrak, E., İçağa, Y. & Konuk, M. (2012).** Relationships between epipellic diatoms, aquatic macrophytes, and water quality in Akarçay Stream, Afyonkarahisar, Turkey. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, **41**(1), 74-84. DOI: [10.2478/s13545-012-0009-z](https://doi.org/10.2478/s13545-012-0009-z)
- Kalıpcı, E., Cüce, H. & Toprak, S. (2017a).** Damsa Barajı Nevşehir Yüzey Suyu Kalitesinin Coğrafi Bilgi Sistemi ile Mekansal Analizi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, **7**(1), 312-319.
- Kalıpcı, E., Cüce, H. & Toprak, S. (2017b).** Coğrafi Bilgi Sistemleri (Cbs) Kullanılarak Mamasın Barajı Yüzey Suyu Kalitesinin Değerlendirilmesi. *Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, **6**(2), 351-361. DOI: [10.28948/ngumuh.341144](https://doi.org/10.28948/ngumuh.341144)
- Kıvrak, E., Uygun, A. & Kalyoncu, H. (2012)** Akarçay'ın (Afyonkarahisar) Su Kalitesini Değerlendirmek İçin Diyatome İndekslerinin Kullanılması. *AKÜ FEBİD*, **12**, 27-38.
- Klee, O. (1990).** *Wasser untersuchen: einfache Analysenmethoden und Beurteilungskriterien*. Heidelberg, Wiesbaden, Quelle u. Meyer, p. 230.
- Köse, E., Tokatlı, C. & Çiçek, A. (2014).** Monitoring stream water quality: A statistical evaluation. *Pol. J. Environ.Stud.*, **23**(5), 1637.
- Özer, Ç. & Köklü, R. (2019).** Aşağı Sakarya Akarsu Su Kalitesinin Sulama Suyu Açısından Değerlendirilmesi. *Doğal Afetler ve Çevre Dergisi*, **5**(2), 237-246. DOI: [10.21324/dacd.483146](https://doi.org/10.21324/dacd.483146)
- Parsons, R.T. & Strickland, J.D. (1963).** Discussion of spectrofotometric determination of marine plant pigments with revise dequations for as ceraining

- chlorophyll and carotenoids. *J. Mar Res.* **21**(3), 155-163. DOI: [10.1016/0011-7471\(65\)90662-5](https://doi.org/10.1016/0011-7471(65)90662-5)
- Serteser, A., Kargıoğlu, M., İçağa, Y. & Konuk, M. (2008).** Vegetation as an indicator of soil properties and water quality in the Akarçay Stream (Turkey). *Environmental Management*, **42**(5), 764.
- SKKY. (2015).** *Yüzeysel su kalitesi yönetimi yönetmeliğinde değişiklik yapılmasına dair yönetmelik.* Yayımlandığı resmi gazete: Tarih 15 Nisan 2015, Resmi gazete no: 29327
- Tanyolaç, J. (2010).** *Limnoloji (Tatlısu Bilimi).* Ankara: Hatipoğlu Yayınevi, 297s.
- Tokath, C. (2015).** Assessment of the water quality in the Meriç Stream: as an element of the ecosystem in the Thrace Region of Turkey. *Polish Journal of Environmental Studies*, **24**(5), 2205-2211.
- Tokath, C. (2020).** Ergene nehir havzası su kalitesinin çok değişkenli istatistik analizler kullanılarak değerlendirilmesi. *LimnoFish*, **6**(1), 38-46. DOI: [10.17216/LimnoFish.524036](https://doi.org/10.17216/LimnoFish.524036)
- TSE-TS 266. (2005).** *İnsani tüketim amaçlı sular hakkında yönetmelik, sular-içme ve kullanma suları: Türk Standartları.* Ankara.
- Sönmez, A., Hisar, O. & Yank, T. (2012).** Karasu Irmağında ağır metal kirliliğinin tespiti ve su kalitesine göre sınıflandırılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, **43**(1), 69-77.
- Uncumusaoglu, A. & Akkan, T. (2017).** Assessment of water quality of Yağlıdere stream Turkey using multivariate statistical techniques. *Polish Journal of Environmental Studies*, **26**(4), 1715-1723. DOI: [10.15244/pjoes/68952](https://doi.org/10.15244/pjoes/68952)
- WHO. (2017).** *Guidelines for drinking-water quality;* [cited 2020 Jan 06]. Available from <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254637/9789241549950-eng.pdf?sequence=1>
- Wilcox, L.V. (1955).** *Classification and Use of Irrigation Waters.* USDACircular No. 969, 19 p
- Varol, M. (2020).** Spatio-temporal changes in surface water quality and sediment phosphorus content of a large reservoir in Turkey. *Environmental Pollution*, **259**, 113860. DOI: [10.1016/j.envpol.2019.113860](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113860)
- Verep, B., Mutlu, T., Çakır, V. & Aydın, G. (2017).** Derepazarı Deresinin (Rize-TÜRKİYE) Fiziko-Kimyasal Su Kalitesinin Belirlenmesi ve Bazı Su Kalite Standartlarına Göre Değerlendirilmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **2**(1), 19-22. DOI: [10.35229/jaes.297643](https://doi.org/10.35229/jaes.297643)
- Yılmaz Öztürk, B. & Akköz, C. (2014).** Investigation of water quality of Apa dam lake (Çumra-Konya) and according to the evaluation of PCA. *Biological Diversity and Conservation*, **7**(2), 136-147.
- Zeydan, Ö., Özdoğan, N., Taştepe, P.Ş. & Demirtaş, D. (2019).** Kozlu deresinde (Zonguldak) su kalitesinin incelenmesi. *Doğal Afetler ve Çevre Dergisi*, **5**(2), 187-197. DOI: [10.21324/dacd.451775](https://doi.org/10.21324/dacd.451775)



## Testiküler Doku Kriyoprezervasyonu

Cumali KAYA\* Melih AKAR Eser AKAL Mesut ÇEVİK

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı, 55200 Samsun, Türkiye

Geliş Tarihi: 28 Aralık 2020

Kabul Tarihi: 22 Ocak 2021

Basım Tarihi: 31 Mart 2021

Atıf yapmak için: Kaya, C., Akar, M., Akal, E. & Çevik, M. (2021). Testiküler Doku Kriyoprezervasyonu. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 128-134.  
How to cite: Kaya, C., Akar, M., Akal, E. & Çevik, M. (2021). Testicular Tissue Cryopreservation. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 128-134.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0002-0666-5359>  
ID: <https://orcid.org/0000-0002-9160-5026>  
ID: <https://orcid.org/0000-0002-6563-6486>  
ID: <https://orcid.org/0000-0002-0754-6116>

**\*Sorumlu yazarın:**

Cumali KAYA  
Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner  
Fakültesi, Dölerme ve Suni Tohumlama  
Anabilim Dalı, 55200 Samsun, Türkiye.  
✉: [cumali.kaya@omu.edu.tr](mailto:cumali.kaya@omu.edu.tr)

**Öz:** Biyolojik dokuların vücut dışında canlılıklarını kaybetmeden yıllar boyunca saklanabilmesi kriyoprezervasyon aracılığıyla gerçekleştirilebilmektedir. Kriyoprezervasyon yoluyla dondurulacak hücreler, spermatogenezisi devam eden sağlıklı ve fertil hayvanlardan uygun metotlarla toplanarak elde edilebilmektedir. Günümüzde, erkek hayvanlardan suni vajen, elektroejakülör, el ile yapılan manipülasyonlar ve epididimal işlemler sonucu elde edilen spermanın kriyoprezervasyonu ile üreme alanında başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak çeşitli nedenlerden dolayı infertilite problemi olan hayvanlarda, vahşi hayvan türlerinde ve henüz pubertaya ulaşmamış hayvanlarda sperma direkt olarak elde edilemediğinden, genetik materyalin korunması ve saklanabilmesi için farklı tekniklerin arayışı içerisine girilmiştir. Testiküler dokunun kriyoprezervasyonu, farklı hayvan türlerinde üreme kapasitesinin korunmasını ve nesli tükenmekte olan türler ile henüz pubertaya ulaşmamış hayvanlarda gametlerin uzun yıllar saklanabilmesine olanak sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntemle testiküler dokulardan elde edilen spermatozoonlar veya spermatogonial kök hücreler in vitro koşullarda gelişimini tamamlayabilir ve suni tohumlama ya da in vitro fertilizasyon gibi yardımcı üreme uygulamalarında kullanılabilir. Son 30 yılda, çeşitli türlerde başarılı sonuçların alındığı testiküler doku kriyoprezervasyonu henüz optimum materyallerin ve dondurma protokollerinin geliştirilememesinden dolayı detaylı araştırmalara açık ve reproduktif alanda başarılı ilerlemelere sebep olabilecek bir konu olma özelliği taşımaktadır.

**Anahtar kelimeler:** İnfertilite, kriyoprezervasyon, puberta, testiküler doku.

## Testicular Tissue Cryopreservation

**Abstract:** Biological tissues can be stored for many years without losing their viability outside the body through cryopreservation. Cells to be frozen by cryopreservation can be collected by appropriate methods from healthy and fertile animals whose spermatogenesis continues. Today, successful results have been obtained in the reproductive field with the cryopreservation of sperm obtained from male animals as a result of artificial vagina, electroejaculator, manual manipulations and epididymal procedures. However, since sperm cannot be obtained directly in animals with infertility problems due to various reasons, wild animal species and animals that have not yet reached puberty, different techniques have been sought to protect and preserve the genetic material. Cryopreservation of testicular tissue is a method that allows the preservation of reproductive capacity in different animal species and the preservation of gametes for many years in endangered species and animals that have not yet reached puberty. With this method, spermatozoons or spermatogonial stem cells obtained from testicular tissues can complete their development in vitro and can be used in assisted reproductive applications such as artificial insemination or in vitro fertilization. In the last 30 years, on testicular tissue cryopreservation, in which successful results have been obtained in various types, is open to detailed researches due to the fact that optimum materials and freezing protocols have not been developed yet and is a subject that can lead to successful advances in the reproductive field.

**\*Corresponding author's:**

Cumali KAYA  
Ondokuz Mayıs University, Faculty of  
Veterinary Medicine, Department of  
Reproduction and Artificial Insemination,  
55200 Samsun, Turkey.  
✉: [cumali.kaya@omu.edu.tr](mailto:cumali.kaya@omu.edu.tr)

**Keywords:** Cryopreservation, infertility, puberty, testicular tissue.



## GİRİŞ

Mevcut bilimsel gelişmeler içerisinde üreme ve fertilizasyonun korunması her daim önemini korumuş bir konudur. Reprodüktif alandaki mevcut sorunların başında genetik materyalin uzun yıllar boyunca canlılığını yitirmeden korunabilmesi ve minimum hasarla saklandıktan sonra istenilen zamanda kullanılabilmesi gelmektedir. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda fertilitenin devamlılığını sağlayabilmek için genellikle erkek ya da dişi gamet hücresi üzerine odaklanılmış ve birçok memeli türünde belirli bir aşamaya ulaşılmıştır. Bu biyoteknolojik gelişimin kilit noktası ise kriyoprezervasyon olmuştur. Kriyoprezervasyon; yapısal olarak bozulmamış hücre ve dokuların uzun süre korunması ve gelecekte kullanılması amacıyla sıfır derecenin altındaki ısılarla soğutularak bütün metabolik aktivitelerinin minimum seviyeye indirilmesi işlemidir (Wetzels vd., 1996). Üreme hücreleri ve dokularının başarılı bir şekilde dondurulup saklanabilmesi ve istendiğinde çözülebilmesi özellikle suni tohumlama ve embriyo transferi gibi yardımcı üreme tekniklerinin gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır (Tunalı, 2014).

Spermatozoonların kriyoprezervasyonu erkek hayvanlarda fertilitenin korunması için kullanılan ilk seçenektir. Günümüzde birçok hayvan türünün sperması -196 °C'de sıvı azot içerisinde yıllarca saklanabilmekte ve çözüm sonrası belirli düzeylerde fertilite ve gebelik sonuçları elde edilmektedir (Hammerstedt vd., 1990). Ancak tüm bu gelişmelere rağmen kriyoprezervasyon işlemi, spermatozoonların motilite, canlılık ve fertilite parametreleri üzerinde belirli düzeylerde negatif etki oluşturmaktadır (Wongtawan vd., 2006). Spermatozoonlar için soğutma işlemi sırasındaki buz kristallerinin oluştuğu 0°C ile -5°C ve soğuk şokuna maruz kaldıkları -5°C ile -15°C arasındaki sıcaklıklar kritik sıcaklık aralıklarıdır. Özellikle bu dönemde gelişebilecek intrasellüler dehidrasyon, membran lipid ve proteinlerinde destabilizasyon ve denatürasyon, hücre ve endoplazmik retikulumunda ozmotik şişme, plazma membranında intramembranöz kümeleşme ve akrozomal enzimlerin salınımı kriyoprezervasyonun istenmeyen başlıca olumsuz etkilerindedir (Curry & Watson, 1994). Kriyoprezervasyon işleminin spermatozoonlar üzerindeki istenmeyen olumsuz etkileri, nesli tükenmekte olan vahşi hayvan türlerinde istenilen zamanda ve düzeyde sperma alınamaması ve henüz pubertaya ulaşmamış türlerde spermatogenezisin başlamamış olmasından dolayı genetik materyalin korunması için farklı tekniklerin geliştirilmesi ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Bu noktada testiküler dokunun kriyoprezervasyonu, farklı hayvan türlerinde genetik materyalin ve fertilitenin korunmasında önemli bir biyoteknoloji olarak yerini almıştır (Oliveira, 2015).

Testiküler doku, spermatogenezis yoluyla spermatozoonları oluşturan birincil hücreler olan spermatogonyumları içerir. Bu doku kriyoprezervasyon yoluyla saklanabilir ve çözüldükten sonra in vitro olarak gelişimi devam ettirebildiği takdirde elde edilen spermatozoonlar yardımcı üreme teknikleri ile hayvan yetiştirme programlarında kullanılabilir (Yokonishi vd., 2014). Bu derlemenin amacı testiküler doku kriyoprezervasyonu hakkındaki güncel bilgileri derlemek ve hayvan türlerine göre uygun, kullanılabilir yöntemler hakkında detaylı bilgiler sunmaktır.

**Testiküler Dokunun Gelişimi ve Anatomisi:** Embriyonik dönemde cinsiyetin şekillenmesi 3 aşamada gerçekleşmektedir. Kromozomal olarak cinsiyetin tanımlanması olan birinci aşamada XX veya XY cinsiyet kromozomunun oluşumu fertilizasyon sırasında meydana gelmekte ve primer germ hücresini taşıyan hücrelerin mitoz bölünmesi ile devam etmektedir. Bu dönem indifferant dönem olarak adlandırılmaktadır ve erken embriyonal dönemdeki gonadlar henüz cinsiyet yönünden farklılaşmamıştır. Bu dönemden sonra eğer cinsiyet kromozomları XX ise; indifferant gonadlar ilerleyen dönemde ovaryumlara dönüşmekte, XY ise; testisler gelişmektedir. Dolayısıyla dişi memeliler homogametik iken erkek memeliler heterogametik'tirler (McGeedy vd., 2011). Bu dönemde testislerin gelişimi Y kromozomu üzerinde lokalize olan SRY gen bölgesi tarafından kontrol edilmektedir. Fenotipik cinsiyet gelişimi olarak adlandırılan üçüncü aşamada ise gonadların cinsiyet kromozomlarına göre ovaryum veya testislere farklılaşmasının ardından internal ve eksternal genital organların oluşumu başlamaktadır (Yalçın & Çevik, 2020; Wilhelm vd., 2007).

Tüm evcil erkek hayvanlarda oluşumunu tamamlayan testisler inguinal bölgede karın boşluğunun dışında bulunan skrotum adı verilen bir kese içerisinde bulunmaktadır. Ortalama testis şekilleri ve boyutları hayvan türüne, yaşa ve mevsime göre değişmektedir. (Parkinson, 2019). Testiküler doku, seminifer tubüllerden (tubuli seminiferi) ve interstisyel dokudan oluşur. Seminifer tubül, fibroblastlar, miyoid hücreler (özel düz kas hücreleri) ve lamina propria ile sınırlıdır. Lamina propria üzerinde bulunan spermatogonyumlar ve sertoli hücreleri spermatozoonların üretiminden sorumlu hücrelerdir. İnterstisyel doku (interstitium testis), kan damarlarını, lenfatik kanalları, sinirleri, bağ dokusunu ve leydig hücrelerini (endokrinokytus interstitialis) içerir. Testosteron da dâhil olmak üzere steroid hormonların üretiminden sorumlu olan leydig hücreleri, yetişkinlerde interstisyel dokunun ana bileşenidir (Amann, 2011).

**Testiküler Dokunun Endokrin İşlevleri ve Spermatogenezis:** Testisler, spermatogenezis ve steroidogenezis olaylarının gerçekleştiği başlıca erkek

üreme organlarıdır. Spermatogenezis, spermatozoonların üretilip depo edildiği süreci kapsarken, steroidogenezis ise testosteron gibi başlıca erkek steroid hormonlarının üretildiği süreçten meydana gelir (Weinbauer vd., 2010). Erkek üreme fizyolojisi, her ikisi de gonadotropin salgılatıcı hormona (GnRH) yanıt olarak sentezlenen, hipofiz gonadotropinleri olarak bilinen, luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormonun (FSH) endokrin kontrolü altındadır. LH'nin en önemli etkisi, testosteron sentezi yapan Leydig hücreleri üzerinedir. Testosteron, spermatozoon üretimi, epididimiste olgunlaşması, cinsiyet bezlerinin işlevinin oluşumu ve ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişimi için gereklidir (Holdcraft & Braun, 2004). Testosteron hormonunun etkin hale gelebilmesi ve dokular üstünde androjenik etki gösterebilmesi için 5 $\alpha$ -redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona (DHT) hormonuna dönüşmesi şarttır. Testosteron, sertoli hücrelerinde ve cinsiyet bezlerinde tip-1 5 $\alpha$ -redüktaz ve tip-2 5 $\alpha$ -redüktaz adı verilen iki enzimle DHT hormonuna dönüşür (Steers, 2001). Aromatizasyona duyarlı olmayan ve testosterondan daha güçlü bir androjen olan DHT, üreme sisteminin gelişimi, sekonder cinsiyet özelliklerinin oluşumu ve cinsiyet bezlerinin aktivitesini kontrol eden bir androjen iken, testosteron ise spermatogenezisde yer alan birincil androjendir. Hem testosteron hem de DHT, tubül lümeni içinde FSH'nin uyarımı ile sertoli hücreleri tarafından salgılanan androjen bağlayıcı proteinlere (ABP) bağlanır. ABP'nin rolü, seminifer tubülün ve epididimisin lumeninde yüksek androjen konsantrasyonlarını korumaktır. FSH'nin ana hedefi, adenilat siklazla bağlantılı enzim sistemleriyle de hareket ettiği sertoli hücresidir. FSH'nin etkisi altında sertoli hücrelerinden inhibin ve ABP salgılanır. FSH, ayrıca sertoli hücresinde spermatogenezisi düzenleyen ve destekleyen birçok genden sorumludur (Walker & Cheng, 2005). İnhibin, doğrudan hipofiz seviyesinde FSH sekresyonu hakkında negatif geri bildirim neden olurken, LH üzerinde çok az etkisi vardır (Parkinson, 2019).

Spermatogenezis hayvanların pubertaya ulaşmasına yakın bir zamanda, endokrin sistemin aktivasyonu ile başlar ve testislerin seminifer tubüllerinin germinal epitelinde bulunan spermatogonia adı verilen primordial germ hücrelerinden spermatozoon üretimine kadar geçen süreci kapsar. Bu süreç üç aşamaya ayrılmaktadır. Spermatositogenezis adı verilen ilk aşama spermatogonyumun mitotik çoğalması aşamasıdır. Bu aşamada primer spermatositler ve yeni rezerv spermatogonyum oluşur. Mayozis olarak adlandırılan ikinci aşama, spermatidlerin (haploidler) üretimi için primer ve sekonder spermatositlerin mayotik bölünmelerini içerir. Üçüncü aşama veya spermiyogenezis ise spermatidlerden spermatozoonların oluşumuyla sonuçlanan bir dizi hücresel dönüşümün ve değişimin gerçekleştiği bir farklılaşma aşamasıdır (Amann, 1981).

Spermiyogenezisin başlıca olayları akrozom oluşumu, nükleer yoğunlaşma ve gerilme, sitoplazmik kasılma ve flagellum oluşumudur. Oluşan spermatozoonların depo edilecekleri epididimise ulaşabilmeleri için seminifer tubüllerin lümenine salınmasına spermiyasyon adı verilir. Tüm bu süreçler hayvan türüne, yaşa, mevsime göre değişmektedir (Busato vd., 2017).

**Testiküler Doku Kriyoprezervasyonu:** Çoğu vahşi ve evcil hayvan türü yasadışı avcılık, habitatların kaybı, hastalık ve infertilite gibi birçok faktör nedeniyle nesli tükenmekte olan türler olarak sınıflandırılmaktadır. Bu gibi durumlarda üreme potansiyelinin korunması ve çoğaltılması amacıyla erkek veya dişi gametlerin elde edilmesi uygun koşullarda saklanması ve daha sonra yardımcı üreme teknolojilerinde kullanılması gibi gamet koruma teknikleri geliştirilmiştir (Wildt vd., 2010). Ancak aniden ölen çoğu hayvan türünde gelişmeyen gamet hücreleri genetik materyalin korunmasına ve bu sayede türlerin devamlılığının sağlanmasına olanak sağlamamaktadır (Buarpong vd., 2013). Bu gibi durumlarda hem evcil hem de vahşi memeliler için nispeten yeni bir biyoteknoloji olan testiküler dokunun kriyoprezervasyonu üreme potansiyelinin korunmasına çözüm olabilecek potansiyel bir yöntemdir (Oliveira, 2015). Testiküler doku, spermatozoonu oluşturan birincil hücreler olan spermatogonyumları da içerir. Bu doku dondurularak saklanabilir ve çözülürldükten sonra spermatogenezis in vitro olarak tamamlanabilir. Kültür ortamından elde edilen spermatozoonlar, yardımcı üreme yöntemleriyle hayvan yetiştirme programlarında kullanılabilir (Yokonishi vd., 2014). Bu biyoteknoloji, ölen prepubertal hayvanların yanı sıra, kemoterapi gibi infertiliteye neden olabilecek uygulamalara maruz kalan türlerde de fertilitenin korunması ve devamlılığının sağlanması amacıyla uygulanabilecek alternatif yöntemlerden biridir. Kriyoprezerve edilmiş testiküler dokularda bulunan spermatogonik hücreler, testiküler dokular çözülürldükten sonra in vitro yöntemlerle gelişim süreçlerini tamamlayabilirler, bu da yüksek genetik değeri olan hayvanların fertilitite ve genetik kaynaklarının korunmasına olanak sağlar (Pukazhenti vd., 2015).

Testisler, doku parçası veya spermatozoon süspansiyonu şeklinde kriyoprezerve edilebilmektedir. (Steirteghem, 1999). Doku parçası şeklinde yapılan kriyoprezervasyon çalışmaları, süspansiyon şeklinde yapılan kriyoprezervasyon protokollerinden daha yaygındır. Bunun sebebi seminifer tubüllerde bulunan spermatozoonların zor izole edilmesi ve bu sebeple spermatozoon sayısının azalmasına neden olmasıdır (Silber vd., 1995). Ayrıca, testiküler dokuların parçalanması esnasında hücre lizislerinden üretilen toksinler spermatozoon kalitesini olumsuz etkilemektedir (Aslam vd., 1998). Testis dokusunun kriyoprezervasyonu

anatomik olarak testisin farklı bölmelerinde farklı hücre tiplerinin bulunmasından dolayı zor bir işlemdir (Hovatta, 2000). Testiküler dokunun dondurularak saklanması; *yavaş dondurma*, *hızlı dondurma* ve *vitrifikasyon* gibi teknikler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. Ancak, günümüzde kullanılmakta olan protokoller hala birçok türde test edilmektedir (Çizelge 1) (Lima & Da Silva, 2017). Testiküler doku kriyoprezervasyon protokollerinde kriyoprotektan maddelerin kullanımı, doku çözdürüldükten sonra hücre canlılığının korunmasına yönelik önemli bir adımdır. Kriyoprotektan maddeler çözdürme işlemi sırasında hücrelerde meydana gelebilecek bazı hasarları önlerler. Çeşitli kriyoprotektan maddeler (dimetil sülfoksit, etilen glikol, propanediol, gliserol) farklı türlerde testiküler doku kriyoprezervasyon protokollerinde testiküler hücrelerin kalitesini ve yaşayabilirliğini korumak için test edilmiştir (Unni vd., 2012).

**Tablo 1.** Farklı hayvan türlerinde yapılan testiküler kriyoprezervasyon teknikleri (Lima ve da Silva, 2017'den uyarlanmıştır).

**Table 1.** Testicular cryopreservation techniques applied in different species.

Tür	Kriyoprotektan Madde	Kriyoprezervasyon Yöntemi	Sonuç
Domuz	DMSO/EG/GLY	Yavaş Dondurma Vitrifikasyon	GLY yavaş dondurulduktan sonra daha yüksek hücre canlılığı ile sonuçlanmıştır. DMSO vitrifikasyondan sonra hücre canlılığının artmasına yol açmıştır (Abrishami vd., 2010). DMSO olgunlaşmamış testis dokularında en iyi sonuç veren kriyoprotektan iken, olgunlaşmış testis dokusunda en iyi sonuç EG ile elde edilmiştir (Unni vd., 2012).
Rat	DMSO/GLY/EG	Yavaş Dondurma	Canlılık vitrifikasyondan sonra > %95, Hızlı dondurmadan sonra > %80, Yavaş dondurmadan sonra < %25 (Gouk vd., 2011).
Fare	DMSO/EG/GLY/PRO	Yavaş Dondurma Hızlı Dondurma Vitrifikasyon	DMSO/GLY kombinasyonu seminifer tubullerin morfolojisinin daha iyi korunmasını ve potansiyel hücre çoğalmasının daha yüksek bir yüzdesini sağlamıştır (Lima vd., 2017)
Evcil kedi	DMSO/EG/GLY	Vitrifikasyon	Çözüm sonrası canlılık> %68 (Barbosa vd., 2011).
Boğa	DMSO/PRO	Yavaş Dondurma	Yavaş dondurma testis dokusunu en iyi şekilde korumuştur (Pukazenthi vd., 2015).
Koç	DMSO/EG	Yavaş Dondurma Vitrifikasyon	Hızlı dondurma spermatozoon zarında küçük hasarlara neden olmuştur (Thuwanut vd., 2013)
Vahşi kedi	DMSO/EG	Yavaş Dondurma Hızlı Dondurma	

**Testiküler Doku Kriyoprezervasyonunda Kriyoprotektanların Kullanımı:** Kriyoprezervasyon işlemi, düşük sıcaklıklara ve ozmotik dengesizliklere maruz kalmaları nedeniyle spermatozoonlar üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Bu işlemin zararlı etkilerini en aza indirmek, dokularda bulunan organelleri korumak ve kriyoprezervasyon işleminden sonra fonksiyonel tutmak için hücre içi ve hücre dışı aktiviteye sahip kriyoprotektan maddeler kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu kriyoprotektan maddeler belirli konsantrasyonların üzerinde veya altında ilave edildiğinde doku ve hücrelerde toksikasyona ya da donma hasarına neden olmaktadır (Unni vd., 2012). Çizelge 1'de belirtildiği gibi testiküler dokunun kriyoprezervasyonunda kullanılan başlıca hücre içi kriyoprotektanlar dimetil sülfoksit (DMSO), etilen glikol (EG), propandiol (PRO) ve gliserol (GLY)'dür. Hücre içi kriyoprotektanlar, düşük moleküler

ağırlığa sahiptir. Kriyoprezervasyon işlemi sırasında hücre içinde buz kristallerinin maksimum düzeyde oluşumunu engelleyerek, çözüm aşamasında hücrenin yapısının ve fonksiyonunun korunmasına yönelik etki ederler (Castro vd., 2011). Testiküler doku kriyoprezervasyon araştırmalarında kullanılan başlıca hücre dışı kriyoprotektan ise sükrözür (Baert vd., 2012). Goossens vd., (2008), prepubertal farelerin (*Mus musculus*) testis dokularının yavaş dondurma yöntemi ile dondurulduğu bir çalışmada DMSO ve etilen glikolü karşılaştırdıklarında DMSO'un çözüm sonrası seminifer tubül yapılarının daha iyi korunduğunu gözlemlemişlerdir. Abrishami vd., (2010), prepubertal domuzların (*Sus domestica*) testis dokusunun yavaş dondurulmasını içeren bir çalışmada DMSO (%75) ile kriyoprezerve edilmiş testis dokularının etilen glikol (%55) ile karşılaştırıldığında daha yüksek canlı hücre yüzdesine sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Yine aynı çalışmada gliserol (%88) ile kriyoprezerve edilmiş testiküler dokular çözdürüldükten sonra en yüksek canlı hücre yüzdesine sahip oldukları tespit edilmiştir. Unni vd., (2012) DMSO, etilen glikol ve gliserolün prepubertal ratların (*Rattus norvegicus*) testis dokusunun yavaş donması üzerindeki etkilerini değerlendirmiş ve DMSO'un hücrelere daha az toksik etkisi olduğunu ve gliserolün ise daha zararlı olduğunu gözlemlemişlerdir. Buarpung vd., (2013), yetişkin kedilerin (*Felis silvestres catus*) testis dokusunun DMSO, etilen glikol, gliserol ve propanediol kullanarak yavaş dondurma yöntemini kullandıkları bir çalışmada çözüm sonrası membran bütünlüğünün korunması açısından en iyi sonuçların gliserol ve etilen glikol ile yapılan kriyoprezervasyondan elde edilirken en düşük düzeyin ise DMSO'dan elde edildiğini gözlemlemişlerdir.

**Testiküler Doku Kriyoprezervasyon Yöntemleri:** Testiküler dokuyu kriyoprezerve etmek için kullanılan en yaygın yöntemler *yavaş dondurma* ve *vitrifikasyondur* (Abrishami vd., 2010). Her iki yöntem de tür bazında optimum koşulların oluşabilmesi amacıyla farklı hayvan türlerinde ve farklı kriyoprotektan maddelerle çalışılmasına rağmen, yavaş dondurma vitrifikasyona kıyasla daha sık kullanılmaktadır (Wyns vd., 2013). Testiküler dokunun dondurulması amaçlı kullanılan bir diğer teknik ise hızlı dondurmadır (Buarpung vd., 2013). Testis fragmanlarının maruz kaldığı sıcaklığı kademeli olarak düşüren otomatik soğutma cihazları kullanılarak yavaş dondurma işlemi gerçekleştirilmektedir. Temel olarak ele alındığında hayvanlardan elde edilen testiküler doku parçacıkları ilk olarak 10-15 dakika boyunca 4 °C'de kriyoprotektan madde içeren bir denge çözeltisine maruz bırakılır. Daha sonra bu dokular kontrollü sıcaklık indirgemesine tabi tutulur ve kriyotüplere aktarıldıktan sonra ise sıvı azot içinde saklanır (Gurina vd., 2011).

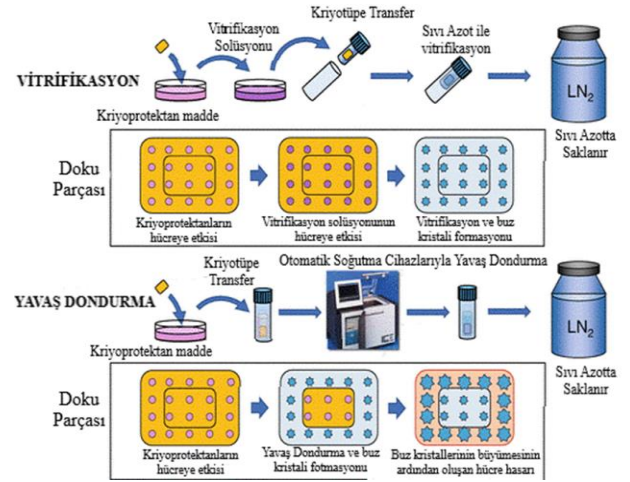
Yıldız vd., (2013), farelerin testiküler doku parçalarını yavaş donmaya maruz bırakmak için programlanabilir bir otomatik soğutma cihazı kullanmışlardır. Doku parçaları 4 °C'de denge çözeltisinde bekledikten sonra, sıcaklık 0 °C'ye ulaşana kadar her bir dakikada 1 °C'lik sıcaklık düşüşüne tabi tutulmuş ve bu sıcaklıkta 5 dakika muhafaza edilmişlerdir. Doku parçaları daha sonra sıcaklık sırasıyla -8 °C, -40 °C ve -80 °C'ye ulaşana kadar kademeli olarak soğutulmuş ve bu sıcaklıklarda farklı dengeleme sürelerinde bekletildikten sonra hemen sıvı azota aktarılmışlardır. Bu yöntem, dokuların kriyoprotektan maddelerin zararlı etkilerine daha az maruz kalmasını sağlar. Ancak, kriyoprezervasyon işlemi sırasında buz kristali oluşumu olasılığı nispeten yüksektir, bu da çözündürüldükten sonra dokunun kullanımını engelleyebilmektedir (Thuwanut vd., 2013).

Hızlı dondurma işleminde ise testiküler parçacıklar 30 dakikadan fazla denge çözeltisine maruz bırakıldıktan sonra 10 dakika boyunca sıvı azotun 4-5 cm üzerinde azot buharında tutulur ve işlemin son basamağı olarak kriyotüplere aktarılır ve sıvı azot içine daldırılır (Thuwanut vd., 2013).

Vitrifikasyon, özellikle dişi gonadal dokusunun kriyoprezervasyonunda yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Carvalho vd., 2011). Birçok vitrifikasyon tekniği olmasına rağmen testiküler doku kriyoprezervasyon araştırmalarında kullanılan teknik katı yüzey vitrifikasyondur (SSV, Solid Surface Vitrification). Bu teknik, doku fragmanlarının 5-10 dakika boyunca azaltılmış kriyoprotektan (toplam kriyoprotektan madde hacminin %50'si) konsantrasyonlarına sahip bir denge çözeltisine maruz bırakılmasıyla başlamaktadır. Parçalar daha sonra 5-10 dakika boyunca %100 kriyoprotektan içeren bir vitrifikasyon çözeltisine maruz bırakılır. Nihai kriyoprotektan madde konsantrasyonu %30'dan yüksektir (Abrishami vd., 2010). Bu işlemden sonra kriyoprotektanlarla işlem gören doku parçaları sükröz ve fetal sıgır serumu gibi kriyoprotektan maddelerle birlikte hücre kültürü ortamına ilave edilir (Baert vd., 2012). Testiküler dokular vitrifikasyon çözeltisine maruz bırakıldıktan sonra, parçalar, yalıtılmış bir kutu içinde sıvı azotun üzerinde tutulan metal bir küp içine yerleştirilir ve dokunun ultra hızlı bir şekilde soğutulmasını sağlar. Soğutulduktan sonra, bu dokular kriyotüplere yerleştirilir ve sıvı azot içinde tutulur (Lima vd., 2016). Şekil 1'de yavaş dondurma ve vitrifikasyon yöntemlerinin dokular üzerindeki etkileri şematize edilmiştir (Suzuki, 2018).

Tüm testiküler doku kriyoprezervasyon teknikleri arasında vitrifikasyon en düşük maliyete sahip olanıdır ve gerçekleştirilmesi en kolay yöntemdir. Kullanılan ultra hızlı soğutma hızları nedeniyle kristalleşmeyi önlemede de diğer tekniklerden daha etkilidir. Bununla birlikte, dokuyu yüksek konsantrasyonlarda kriyoprotektan maddelere

maruz bırakmak kök hücrelerin morfolojik ve fonksiyonel özelliklerinin korunmasına zarar verebilir (Baert vd., 2012).



Şekil 1. Yavaş dondurma ve vitrifikasyonun doku dondurmada hücelere etkileri (Suzuki, 2018).

Figure 1. Effects of slow freezing and vitrification on cells in tissue freezing (Suzuki, 2018).

Herhangi bir kriyoprezervasyon tekniğinin kullanılması, hücresel yapıya zarar vererek hücre canlılığının azalmasına neden olabilmektedir. Ayrıca, bu tekniklerin kullanılmasıyla yardımcı üreme yöntemlerinde kaydedilen ilerlemeye rağmen, farklı türlerde testiküler doku kriyoprezervasyonu için ideal bir teknik hala belirlenmemiştir (Carvalho vd., 2011). Gouk vd., (2011), prepubertal farelerin testis dokusu üzerinde yavaş dondurma, hızlı dondurma ve vitrifikasyonun etkisini karşılaştıran bir çalışma yürütmüşlerdir. Çözüm sonrası hücre canlılığının vitrifikasyon grubunda (%95), hızlı dondurma grubuna (%72) ve yavaş dondurma grubuna (%24) göre daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Evcil kedilerle yapılan bir çalışmada ise Buarpung vd., (2013) yavaş dondurma ve hızlı dondurma tekniklerini karşılaştırmışlardır. Yavaş dondurma grubunda bulunan (%45,9) testiküler dokulardaki organeller, kontrol grubu (%60,3) ve hızlı dondurma grubuna (%55,0) kıyasla daha düşük bir plazma membran bütünlüğünü yüzdesi göstermişlerdir. Testis dokusunun donma hassasiyetini değerlendirmek ve farklı türlerde hangi kriyoprezervasyon protokollerinin etkili olduğunu belirlemek için farklı kriyoprezervasyon yöntemleri kullanılarak çalışmalar yapılmış, ancak çelişkili sonuçlar elde edildiği bildirilmiştir. Bu nedenle, evcil ve vahşi hayvanların yardımcı üreme teknikleri ile çoğalmasında testiküler doku kriyoprezervasyonunun pratikte uygulanabilmesi için daha fazla araştırma yapılması, en uygun metodun belirlenmesi ve standardize edilmesi gerekmektedir (Carvalho vd., 2011).

## SONUÇ

Testiküler doku kriyoprezervasyonu, prepubertal hayvanlarda ve herhangi bir nedenden dolayı spermanın elde edilemediği hayvanlarda genetik materyalin korunması ve gelecek nesillere genetik aktarımın sağlanması amacıyla uygulanabilecek önemli biyoteknolojik yöntemlerden birisi olarak değerlendirilmektedir. Çeşitli türlerde yapılan başarılı deneysel çalışmalarda dondurularak saklanan dokulardan elde edilen spermatozoonların, yardımcı üreme yöntemlerinde kullanılmasıyla gebelik ve yavrular elde edilebilmiştir. Ancak tüm bu olumlu sonuçlara rağmen kullanılacak olan kriyoprotektan maddelerin miktarı ve dokuların dondurma yöntemleri henüz tam olarak netlik kazanamamıştır. Bu nedenle testiküler doku kriyoprezervasyonunun tür bazına indirgenerek optimum koşulların oluşturulabilmesi için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Ülkemizde bu konu ile ilişkili teknik alt yapının gelişmesi, araştırma ve uygulamaların sayısının artması sonucunda ekonomik kazanım sağlanması söz konusu olabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Abrishami, M., Anzar, M., Yang, Y. & Honaramooz, A. (2010).** Cryopreservation of immature porcine testis tissue to maintain its developmental potential after xenografting into recipient mice. *Theriogenology*, *73*(1), 86-96.
- Amann, R.P. (1981).** A review of anatomy and physiology of the stallion. *Journal of Equine Veterinary Science*, *1*(3), 83-105.
- Amann, R.P. (2011).** Equine Reproduction, McKinnon, A.O., Squires, E.L., Vaala, E.W. & Varner, D.D. (ed), Functional Anatomy of the Adult Male, 2nd ed., 867-880p, Blackwell Publishing Ltd.
- Aslam, I., Robins, A., Dowell, K. & Fishel, S. (1998).** Isolation, purification and assessment of viability of spermatogenic cells from testicular biopsies of azoospermic men. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *13*(3), 639-645.
- Baert, Y., Goossens, E., van Saen, D., Ning, L. & Tournaye, H. (2012).** Orthotopic grafting of cryopreserved prepubertal testicular tissue: in search of a simple yet effective cryopreservation protocol. *Fertility and Sterility*, *97*(5), 1152-1157.
- Barbosa, A.P.M., Martins, C.F. & Sereno, J.R.B. (2011).** Criopreservação de células espermatogênicas bovinas utilizando diferentes moléculas protetoras. *Archivos de Zootecnia*, *60*(230), 293-296.
- Buarpong, S., Tharasanit, T., Comizzoli, P. & Techakumphu, M. (2013).** Feline spermatozoa from fresh and cryopreserved testicular tissues have comparable ability to fertilize matured oocytes and sustain the embryo development after intracytoplasmic sperm injection. *Theriogenology*, *79*(1), 149-158.
- Busato, E.M., De Abreu, A.C.M.R., Bergstein-Galan, T.G., Bertol M.A.F. & Weiss, R.R. (2017).** Reproduction Biotechnology in Farm Animals Bergstein-Galan TG, (ed), Chapter 1- *Reproductive Physiology of the Equine*. 1st ed., 1-36p, Avid Science.
- Carvalho, A., Rocha Faustino, L., Ricardo de Figueiredo, J., Paula Ribeiro Rodrigues, A. & Paulo Raposo Costa, A. (2011).** Vitrification: an alternative for preserving embryos and genetic material mammalian females in cryobanking. *Acta Veterinaria Brasilica*, *5*(3), 236-248
- Castro, S.V., de Andrade Carvalho, A., da Silva, C.M.G., Faustino, L.R., de Figueiredo, J.R. & Rodrigues, A.P.R. (2011).** Agentes crioprotetores intracelulares: características e utilização na criopreservação de tecido ovariano e oócitos. *Acta Scientiae Veterinariae*, *39*(2), 1-17.
- Curry, M.R. & Watson, P.F. (1994).** Osmotic effects on ram and human sperm membranes in relation to thawing injury. *Cryobiology*, *31*(1), 39-46.
- Goossens, E., Frederickx, V., Geens, M., De Block, G. & Tournaye, H. (2008).** Cryosurvival and spermatogenesis after allografting prepubertal mouse tissue: comparison of two cryopreservation protocols. *Fertility and Sterility*, *89*(3), 725-727.
- Gouk, S.S., Loh, Y.F.J., Kumar, S.D., Watson, P.F. & Kuleshova, L.L. (2011).** Cryopreservation of mouse testicular tissue: prospect for harvesting spermatogonial stem cells for fertility preservation. *Fertility and Sterility*, *95*(7), 2399-2403.
- Gurina, T.M., Pakhomov, A.V., Kyrlyuk, A.L. & Bozhok, G.A. (2011).** Development of a cryopreservation protocol for testicular interstitial cells with the account of temperature intervals for controlled cooling below -60° C. *Cryobiology*, *62*(2), 107-114.
- Hammerstedt, R.H., Graham, J.K. & Nolan, J.P. (1990).** Cryopreservation of mammalian sperm: what we ask them to survive. *Journal of Andrology*, *11*(1), 73-88.
- Holdcraft, R.W. & Braun, R.E. (2004).** Hormonal regulation of spermatogenesis. *International Journal of Andrology*. *27*, 335-342.

- Hovatta, O. (2000).** Cryopreservation of testicular tissue. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **169**(1-2), 113-115.
- Lima, D.B.C. & Silva, L.D.M. (2017).** Cryopreservation of testicular tissue: an alternative to maintain the reproductive capacity in different animal species. *Ciência Rural*, **47**(11).
- Lima, D.B.C., Silva, T.F.P., Morais, G.B., Aquino-Cortez, A., Evangelista, J.S.A.M., Xavier Júnior, F.A.F. & Silva, L.D.M. (2017).** Different associations of cryoprotectants for testicular tissue of prepubertal cats submitted to vitrification. *Reproduction in Domestic Animals*, **52**, 235-241.
- McGeady, T.A., Quinn, P.J., FitzPatrick, E.S., Ryan, M.T. (2011).** *Veteriner Embriyoloji*. 1. Baskı, Malatya, Medipres Yayıncılık, 24, 263-266p.
- Oliveira, E.C.S. (2015).** Cryopreservation of testicular tissue. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **39**(1), 109-110.
- Parkinson, T.J. (2018).** Reproductive Physiology of Male Animals. *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics-E-Book*, 35p.
- Pukazhenthii, B.S., Nagashima, J., Travis, A.J., Costa, G.M., Escobar, E.N., França, L.R. & Wildt, D. E. (2015).** Slow freezing, but not vitrification supports complete spermatogenesis in cryopreserved, neonatal sheep testicular xenografts. *PLoS One*, **10**(4), e0123957.
- Silber, S., Van Steirteghem, A.C., Liu, J., Nagy, Z., Tournaye, H. & Devroey, P. (1995).** High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Human Reproduction*, **10**(1), 148-152.
- Steers, W.D. (2001).** 5 $\alpha$ -reductase activity in the prostate. *Urology*, **58**(6), 17-24.
- Steirteghem, A.V. (1999).** Freezing of testicular tissue as a minced suspension preserves sperm quality better than whole-biopsy freezing when glycerol is used as cryoprotectant. *International Journal of Andrology*, **22**(1), 43-48.
- Suzuki, N. (2018).** Current Status of Ovarian Tissue Vitrification as a Fertility Preservation for the Young Cancer Patients. *In Cell Biology of the Ovary*, 113-121p, Springer, Singapore.
- Thuwanut, P., Srisuwatanasagul, S., Wongbandue, G., Tanpradit, N., Thongpakdee, A., Tongthainan, D. & Chatdarong, K. (2013).** Sperm quality and the morphology of cryopreserved testicular tissues recovered post-mortem from diverse wild species. *Cryobiology*, **67**(2), 244-247.
- Tunalı, U.D.G. (2014).** Sperm kriyoprezervasyon teknikleri ve fertilizasyon başarısındaki rolü. *Journal Agent-Androloji*, **57**, 123-128.
- Unni, S., Kasiviswanathan, S., D'Souza, S., Khavale, S., Mukherjee, S., Patwardhan, S. & Bhartiya, D. (2012).** Efficient cryopreservation of testicular tissue: effect of age, sample state, and concentration of cryoprotectant. *Fertility and Sterility*, **97**(1), 200-208.
- Walker, W.H. & Cheng, J. (2005).** FSH and testosterone signaling in Sertoli cells. *Reproduction*, **130**(1), 15-28.
- Weinbauer, G.F., Luetjens, C.M., Simoni, M. & Nieschlag, E. (2010).** Physiology of testicular function. *In Andrology*. 11-59p, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Wetzels, A.M.M., Bras, M., Lens, J.W., Piederiet, M.H., Rijnders, P.M. & Zeilmaker, G.H. (1996).** Laboratory aspects of in vitro fertilization. *Cryopreservation/Theory*, 229-244.
- Wildt, D.E., Comizzoli, P., Pukazhenthii, B. & Songsasen, N. (2010).** Lessons from biodiversity—the value of nontraditional species to advance reproductive science, conservation, and human health. *Molecular Reproduction and Development*, **77**(5), 397-409.
- Wilhelm, D., Palmer, S. & Koopman, P. (2007).** Sex determination and gonadal development in mammals. *Physiological Reviews*, **87**, 1-28.
- Wongtawan, T., Saravia, F., Wallgren, M., Caballero, I., & Rodriguez-Martinez, H. (2006).** Fertility after deep intra-uterine artificial insemination of concentrated low-volume boar semen doses. *Theriogenology*, **65**(4), 773-787.
- Wyns, C., Abu-Ghannam, G. & Poels, J. (2013).** Testicular tissue vitrification: Evolution or revolution?. *Gynecologie, Obstetrique & Fertilité*, **41**(9), 558-561.
- Yalçın, B. & Çevik, M. (2020).** Memelilerde Cinsiyetin Tayini ve Değerlendirilmesi. *Hayvansal Üretim*, **61**(1), 63-72.
- Yildiz, C., Mullen, B., Jarvi, K., McKerlie, C. & Lo, K. C. (2013).** Effect of different cryoprotectant agents on spermatogenesis efficiency in cryopreserved and grafted neonatal mouse testicular tissue. *Cryobiology*, **67**(1), 70-75.
- Yokonishi, T., Sato, T., Komeya, M., Katagiri, K., Kubota, Y., Nakabayashi, K. & Ogawa, T. (2014).** Offspring production with sperm grown in vitro from cryopreserved testis tissues. *Nature Communications*, **5**(1), 1-6.



## The Effect of Using Peanut Meal Instead of Soybean Meal on Growth, Biochemical Composition and Fillet Color of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792)

Seval DERNEKBAŞI Dilara KAYA ÖZTÜRK\* İsmihan KARAYÜCEL  
Sinop University, Faculty of Fisheries, Department of Aquaculture, Sinop, Turkey

Geliş/Received: 06 Ocak 2021

Kabul/Accepted: 23 February 2021

Yayın/Published: 31 March 2021

**How to cite:** Dernekbaşı, S., Kaya Öztürk, D. & Karayücel, İ. (2020). The Effect of Using Peanut Meal Instead of Soybean Meal on Growth, Biochemical Composition and Fillet Color of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 6(1), 135-141.  
Atıf yapmak için: Dernekbaşı, S., Kaya Öztürk, D. & Karayücel, İ. (2020). Soya Küspesi Yerine Yer Fıstığı Küspesinin Kullanımının Gökkuşluğu Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Büyüme, Biyokimyasal Kompozisyon ve Fileto Rengine Etkisi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 6(1), 135-141.

\*ID: <https://orcid.org/0000-0003-2505-231X>  
ID: <https://orcid.org/0000-0001-5735-2486>  
ID: <https://orcid.org/0000-0003-2520-7545>

\*Corresponding author's:  
Dilara KAYA ÖZTÜRK  
Sinop University, Faculty of Fisheries,  
Department of Aquaculture, Sinop, Turkey  
✉: [dilara.kaya55@gmail.com](mailto:dilara.kaya55@gmail.com)

**Abstract:** The aim of this study was to determine the effect of using peanut meal instead of soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) feeds on growth performance, biochemical composition and fillet color. For this purpose, rainbow trout (108.70±0.09 g) were fed for eight weeks with four different diets adjusted as iso-nitrogenic (45% protein), iso-lipidic (19% lipid) and iso-energetic (22 kJ g<sup>-1</sup>). While the CF (commercial feed) group was fed with commercial feed, three experimental diets containing 0% (Control-C), 50% (PNM<sub>50</sub>) and 100% (PNM<sub>100</sub>) peanut meal were formulated for the other groups. As a result of the 8 weeks study, the best final weight, weight gain and specific growth rate were found PNM<sub>50</sub> group and the difference among groups was found significant. (p<0.05). The use of peanut meal instead of soybean meal in rainbow trout diets decreased fish meat protein ratios compared to CF and C groups. The qualities of redness, yellowness and hue were distinct between the diets in the dorsal and caudal locations. At all the measured regions in the C and CF groups did not result in any significant difference for chroma. It is thought that the differences between the measured regions in L\*, a\*, b\* are due to the fillet thickness and the preservation of the fillet coloring matter. Consequently, 50% peanut meal instead of soybean meal in trout diets could be used in diets of rainbow trout without any negative effects on growth.

**Keywords:** Biochemical composition, fillet color, *Oncorhynchus mykiss*, peanut meal, plant protein.

## Soya Küspesi Yerine Yer Fıstığı Küspesinin Kullanımının Gökkuşluğu Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) Büyüme, Biyokimyasal Kompozisyon ve Fileto Rengine Etkisi

**Öz:** Bu çalışmada, gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) yemlerinde soya küspesi yerine yer fıstığı küspesi kullanımının balıkların büyüme performansı, biyokimyasal kompozisyon ve fileto rengine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla izo-nitrojenik (%45 protein), izo-lipidik (%19 lipid) ve izo-enerjik (22 kJ g<sup>-1</sup>) olarak hazırlanan dört farklı diyetle gökkuşluğu alabalıkları (108.70±0.09 g) sekiz hafta süreyle beslenmiştir. CF (ticari yem) grubu ticari yemle beslenirken, diğer gruplar için %0 (Kontrol-C), %50 (PNM<sub>50</sub>) ve %100 (PNM<sub>100</sub>) oranlarında yer fıstığı küspesi içeren üç farklı yem hazırlanmıştır. 8 haftalık çalışma sonucunda en iyi ağırlık artışı, ağırlık kazancı ve spesifik büyüme oranı PNM<sub>50</sub> grubundan elde edilmiş ve gruplar arası fark anlamlı bulunmuştur (p<0.05). Gökkuşluğu alabalığı yemlerinde soya küspesi yerine yer fıstığı küspesi kullanılması, CF ve C gruplarına göre balık eti protein oranlarını düşürmüştür. 8 haftalık çalışmadan sonra, dorsal ve kaudal bölgelerdeki kırmızılık, sarılık ve Hue değerleri gruplar arasında farklılık göstermiştir. C ve CF gruplarının ölçüm yapılan tüm bölgelerde, renk parlaklığı açısından önemli bir farklılık görülmemiştir. Ölçüm yapılan bölgelerde L\*, a\*, b\* değerlerinde oluşan farklılıkların, fileto kalınlığından ve filetonun renk maddesini muhafaza etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, alabalık diyetlerinde soya küspesi yerine %50 yer fıstığı küspesi kullanımı, büyüme üzerinde herhangi bir olumsuz etki olmaksızın gökkuşluğu alabalığının diyetlerinde kullanılabilir.

\*Sorumlu yazar:  
Dilara KAYA ÖZTÜRK  
Sinop Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi  
Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü,  
Sinop, Türkiye.  
✉: [dilara.kaya55@gmail.com](mailto:dilara.kaya55@gmail.com)

**Anahtar kelimeler:** Bitkisel protein, biyokimyasal kompozisyon, fileto rengi, *Oncorhynchus mykiss*, yer fıstığı küspesi.

## INTRODUCTION

Global requisition for fish feed continues to rise in order to sustain the increasing aquaculture industry. Fish feed largely influences the success of aquaculture practice because it is the highest single cost of aquaculture (De Silva & Turchini, 2009; Aydın & Gumus, 2016; Pradhan et al., 2020). Thanks to its nutritional value and acceptability, fishmeal is considered a benchmark ingredient for fish feed and has historically been used as a major dietary protein source. However, the over-requisition and rising prices of fishmeal created interest in the use of alternate protein sources for fish diets. The need to replace fishmeal from feeds has been described as a major research priority (Tacon et al., 2011). In several feed formulations, terrestrial plant sources with high protein such as soybeans have been tried as an acceptable alternative to fishmeal (Deng et al., 2006; Collins et al., 2012). Soybean meal are a very quality source of protein (O'Keefe, 2003) and are currently introduced into the feed of carnivorous and omnivorous fish species to the degree of about 25-30% and 50%, respectively (Caruso, 2015). Requisition for soybean meal is constantly increasing with the addition of other livestock industries to their feed (Thoenes, 2014). Soybean meal is the most costly ingredient of fish feed, after fishmeal (Brown et al., 2008). However, there are anti-nutritional factors in soybean meal, such as trypsin inhibitor and phytate, which hinder the use of protein and essential minerals (Francis et al., 2001) and in some studies, high levels of soybean meal supplementation in fish feeds have been associated with intestinal problems in many fish species. (Hedrer et al., 2013; Wang et al., 2017). For that reasons, there is need for the replacement of soybean meal with other suitable terrestrial plant sources.

In feed formulations, there are several possible animal and plant ingredients that can be used. Proper detection of anti-nutritional factors can make it possible to use new plant ingredients in feed formulations. There are plenty of investigations carried out on using plant sources in both industrial by-products and animal nutrition (cottonseed meal: Yue & Zhou, 2008; canola meal: Soares et al., 2001; Zhou & Yue, 2010; sesame meal: Guo et al., 2011; Dernekbaşı & Karayucel, 2017; peanut meal: Dernekbaşı & Karayucel, 2017, Acar &Turker, 2018).

The peanut (*Arachis hypogaea* L.) is the fourth largest oilseed crop in the world (Yildirim et al., 2014), with about 45.6 million tons of global production (Anonymous, 2020a). Peanut meal (PNM) is a by-product derived from the oil extraction of whole or separated peanut seeds and can usually be used as a protein source to replace soybean meal due to its high protein content (40.1-

50.9%) and lower cost than soybean meal (Goes et al., 2004; Batal et al., 2005; Acar &Turker, 2018). Therefore, the aim of this study is to determine the potential effects of diets containing different ratios of peanut meal proteins (50 and 100%) instead of soybean meal on the growth performance, feed conversion, biochemical composition and fillet color in rainbow trout by comparing both within the groups themselves and with the group using the commercial feed.

## MATERIAL AND METHOD

**Experimental Design:** The study was performed at the indoor research and application center of the Sinop University Faculty of Fisheries. The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were brought from a trading company (Kuzey Su Urunleri Inc.) in Samsun, Turkey. They were fed commercial feed (Black Sea Feed) for 15 days and adapted to the environment after the fish were taken to the testing and application center. Following adaptation, fish were weighed and randomly dispersed to twelve circular fiberglass tanks (300 L) with a density of 15 fish per tank. The experiment was scheduled as 4 groups (12 tanks) with three replications for 8 weeks and 15 fish were stocked in each tank ( $108.70 \pm 0.09$  g), and each group was fed one of the four experimental diets. Water quality variables were measured daily; on average, the water temperature was  $16.22 \pm 0.03^\circ\text{C}$ , dissolved oxygen was  $8.32 \pm 0.01$  mg L<sup>-1</sup> and pH was  $7.71 \pm 0.05$ .

This study was conducted in compliance with the rules for animal experiments for scientific purposes and permission was given by the Sinop University, Animal Experiments Local Ethics Committee with permission No. 2020/02 on February 17th, 2020.

**Diet Preparation.** Peanut meal was obtained from a private corporation (Baspınar Toprak Mah. ve Nak. Ltd. Sti., Osmaniye, Turkey). The majority of the ingredients were supplied by a regional fish feed producer (SURSAN A.S., Sinop, Turkey). The experimental feeds containing peanut meal was prepared by changing various extracted soybean meal ratios. While the CF group was fed with commercial feed, three experimental diets containing 0% (Control-C), 50% (PNM<sub>50</sub>) and 100% (PNM<sub>100</sub>) peanut flour were formulated for the other groups. All diets were prepared to be iso-nitrogenous (45% protein), iso-lipidic (19% lipid) iso-energetic (22 kJ g<sup>-1</sup>; Table 1). Mixing, homogenization, moistening (35% water addition), and pelleting (with a 4 mm mincer) were the methods of producing the feeds, respectively. Following the feed preparation process, the feed pellets were dried for 8 h at 50°C, cut into pieces about 3 mm in length. All prepared feeds were stored at -4 °C in plastic bags until used in the



study. During the experiment, all fish groups were fed until satiation by hand twice a day (at 09:00 and 16:00) for 8 weeks. The fish (n=5) were killed with anesthetic overdose at the beginning and at the end of the study (clove oil). All samples taken were stored in a deep freezer (WiseCryo/WUF-D500-80°C) until analysis.

**Table 1.** Formulation (g/kg) and proximate composition (%) of the experimental diets.

Nutrient (g kg <sup>-1</sup> )	Experimental Diets			
	Commercial feed (CF)	C (Control)	PNM <sub>50</sub>	PNM <sub>100</sub>
Fish meal	-	330	330	330
Extracted soybean meal	-	255	127.5	-
Wheat flour	-	153	140	150
Corn protein	-	130	153	153
Peanut meal (PNM)	-	-	127.5	255
Fish oil	-	130	120	110
Vitamin premix <sup>a</sup>	-	1	1	1
Mineral premix <sup>a</sup>	-	1	1	1
<b>Proximate Composition (%)</b>				
Moisture	10	3.33±0.04	4.08±0.25	3.54±0.08
Protein	46	44.87±0.58	46.25±0.19	45.01±0.24
Lipid	19	19.90±0.30	19.73±0.77	20.09±0.42
Ash	10	8.70±0.06	9.02±0.12	9.74±0.06
NFE <sup>1</sup>	1.5	23.20	20.92	21.62
Gross energy (kJg <sup>-1</sup> ) <sup>2</sup>	20.89	22.39	22.26	22.23

<sup>a</sup>Vitamin-mineral premix (mg/kg premix): vitamin A, 210000 IU; Vitamin D<sub>3</sub>, 35000 IU; vitamin E, 7000 mg; vitamin K<sub>3</sub>, 322 mg; vitamin B<sub>1</sub>, 588 mg; vitamin B<sub>2</sub>, 252 mg; vitamin B<sub>6</sub>, 294 mg; vitamin B<sub>12</sub>, 826 mcg; niacin, 1400 mg; biotin, 7583 mcg; 182 mg folic acid, pantothenic acid, 1722 mg; inositol, 17220 mg; vitamin C, 933.31 mg; Ca, 1414mg.

<sup>1</sup>Nitrogen-Free Extract=100-(%protein+ %lipid+ %ash+ %moisture).

<sup>2</sup>Gross energy is calculated according to 23.6 kJ g<sup>-1</sup> protein, 39.5 kJ g<sup>-1</sup> lipid and 17 kJ g<sup>-1</sup> NFE.

Standard formula was used to assess growth, feed utilization and biometric parameters (Table 2), as previously described by Yigit et al. (2006) and Turchini et al. (2011).

**Biochemical Composition:** After the biometric measurements, all fish samples were cleaned from their viscera and the fish filets were used for analysis. Biochemical composition analyses were performed for both the diets and fish fillet. All biochemical analyses in fish fillets were made on a wet basis. All analyses [Dry matter (DM), crude protein (CP), crude lipid (CL), and crude ash (CA)] were performed according to the standard methods of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). DM was detected by drying the samples at 105 °C (for 20 h) until a constant weight was achieved. CL was determined according to the procedure of the Soxhlet method. CP was determined as total nitrogen content by the Kjeldahl method. CA content was measured after samples were treated in a muffle furnace at 550 °C for 6 h. All analyses were performed in triplicate.

**Colour Analysis of Fish Fillet:** Chroma Meter (CR-400, Konica Minolta Marunouchi, Tokyo, Japan), standardized for white plate as comparison before each calculation (standard values for white plate L\* = 91.97; a\* = -1.4; b\* = 2.0, Standard C2-22326), was used to determine the colour values (L\*, a\* and b\*, CIE, 1976) of fish fillet. The values of L\*, a\* and b\* reflect lightness, redness, and yellowness. The Hue is a descriptor to

whether the real colour is usually understood to be and the Chroma (C\*) is the colour's strength or saturation degree. The Hue and Chroma (C\*) angle are determined using the values of a\* and b\* (Kestin & Warriss, 2001). Colour measurement of fillet was done from three locations: 1st location: between the behind of the operculum; 2nd location: front of the caudal fin.

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad Hue = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

**Statistical Analysis:** All analysis results were presented as mean values±SE. Statistical analysis made with by using the IBM SPSS 21 statistical package program. The normality and equality of variance of the data were analyzed by Shapiro-Wilk normality and Levene's tests, respectively. The differences between the results were tested by one-way analysis of variance (ANOVA). The Tukey test was used for comparisons since the equality of the samples.

## RESULTS

**Growth Performance:** In all the feeding procedures, the growth of rainbow trout increased considerably over the experimental period (Table 2). The final weight and weight gain were significantly higher in rainbow trout fed PNM<sub>50</sub> (p<0.05). The rainbow trout fed by PNM<sub>50</sub> were higher in terms of specific growth rate (SGR) and feed conversion rate (FCR). While the lowest hepatosomatic (HSI) and viscerosomatic (VSI) index were in the CF and C groups, HSI and VSI were higher in rainbow trout groups fed PNM<sub>50</sub> and PNM<sub>100</sub> (p<0.05), respectively.

**Table 2.** Growth performance, feed efficiency and biometric index of rainbow trout fed the 4 experimental diets for 8 weeks.

	Diet groups			
	CF	C	PNM <sub>50</sub>	PNM <sub>100</sub>
IBW (g)	108.97±0.49 <sup>a</sup>	108.77±0.24 <sup>a</sup>	108.47±0.19 <sup>a</sup>	108.63±0.24 <sup>a</sup>
FBW (g)	173.90±20.77 <sup>c</sup>	161.83±1.18 <sup>a</sup>	185.01±11.57 <sup>d</sup>	171.49±13.46 <sup>b</sup>
WG (g) <sup>1</sup>	64.93±21.20 <sup>c</sup>	53.06±1.02 <sup>a</sup>	76.54±11.39 <sup>d</sup>	62.86±13.34 <sup>b</sup>
SGR(%) <sup>2</sup>	0.85±0.24 <sup>b</sup>	0.75±0.01 <sup>a</sup>	1.00±0.12 <sup>c</sup>	0.85±0.15 <sup>b</sup>
FCR <sup>3</sup>	2.64±0.90 <sup>b</sup>	2.94±0.49 <sup>c</sup>	1.79±0.11 <sup>a</sup>	2.62±0.48 <sup>b</sup>
HSI (%) <sup>4</sup>	1.04±0.07 <sup>a</sup>	1.22±0.10 <sup>b</sup>	1.27±0.04 <sup>c</sup>	1.23±0.02 <sup>b</sup>
VSI (%) <sup>5</sup>	11.21±0.35 <sup>a</sup>	11.11±0.54 <sup>a</sup>	12.55±0.33 <sup>b</sup>	12.73±0.08 <sup>b</sup>

Data are reported as mean ± standard errors of three replicates (3). Means with different superscript letter in a row are significantly different (p>0.05). IBW: Initial body weight, FBW: Final body weight, replicates.

<sup>1</sup>Weight gain (WG, g)= Final body weight - initial body weight.

<sup>2</sup>Specific growth rate (SGR)= [(ln final wet weight - ln initial wet weight)/days] x 100.

<sup>3</sup>Feed conversion rate (FCR)= total feed intake/weight gain.

<sup>4</sup>Hepatosomatic index (HSI) = (liver weight / body weight) x 100.

<sup>5</sup>Viscerosomatic index (VSI)= (viscera weight/body weight) x 100.

**Biochemical Composition:** The biochemical composition of fillet of rainbow trout was influenced by the incorporation of PNM replacement of soybean meal (p<0.05; Table 3). While the significantly lower protein content of rainbow trout fillet was in the PNM<sub>50</sub> and PNM<sub>100</sub> groups (p<0.05), the CF and C groups were similar protein content. Although the lipid content of rainbow trout

fillet was the highest in PNM<sub>50</sub> group ( $p < 0.05$ ), there was no statistically significant difference between with C group. In terms of lipid content, there was also no statistical difference between the C, CF and PNM<sub>100</sub> groups. ( $p > 0.05$ ). The ash content of rainbow trout fillet was significantly higher in the PNM<sub>50</sub> group ( $p < 0.05$ ).

**Table 3.** Biochemical composition of fillet of rainbow trout fed the four experimental diets for 8 weeks (% wet weight).

	Moisture (%)	Protein (%)	Lipid (%)	Ash (%)
CF	25.92±0.07 <sup>ab</sup>	24.51±0.60 <sup>a</sup>	2.82±0.24 <sup>b</sup>	2.22±0.10 <sup>b</sup>
C	26.21±0.18 <sup>ab</sup>	24.26±0.29 <sup>a</sup>	3.35±0.15 <sup>ab</sup>	2.34±0.14 <sup>ab</sup>
PNM <sub>50</sub>	26.43±0.19 <sup>a</sup>	21.16±0.31 <sup>b</sup>	4.01±0.11 <sup>a</sup>	2.86±0.07 <sup>a</sup>
PNM <sub>100</sub>	25.57±0.13 <sup>b</sup>	20.56±0.24 <sup>b</sup>	2.88±0.01 <sup>b</sup>	2.39±0.13 <sup>ab</sup>

Data are mean ± SE. Means with different superscript letter in a column are significantly different ( $p > 0.05$ ).

**Colour Analysis of Fish Fillet:** Color parameters ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  and Hue) for fillet of rainbow trout fed with experimental diets are shown in Table 4. Average lightness ( $L^*$ ) values of the rainbow trout fillets was a significant difference between the PNM<sub>50</sub> and the CF and C diet groups ( $P < 0.05$ ). The higher  $L^*$  values in the caudal part of the rainbow trout fillet in the C, PNM<sub>50</sub> and PNM<sub>100</sub> groups were higher in the dorsal part of the CF group. The  $a^*$  and  $b^*$  of rainbow trout fillet firstly increased until PNM<sub>50</sub> group and then decreased PNM<sub>100</sub> group. Contrary to other color parameters, the average Hue value is high in group CF and the statistical difference among values is significant ( $p < 0.05$ ).

**Table 4.** The  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  and Hue values of fillet of rainbow trout fed the experimental diets for 8 weeks.

	Fish Fillet		
	Dorsal	Caudal	Average
<b>CF</b>			
$L^*$	47.34±0.78 <sup>yz</sup>	47.25±0.86 <sup>yz</sup>	47.29±0.53 <sup>y</sup>
$a^*$	1.63±0.11 <sup>st</sup>	4.37±0.89 <sup>st</sup>	3.00±0.64 <sup>yz</sup>
$b^*$	4.36±0.75 <sup>st</sup>	10.46±0.93 <sup>st</sup>	7.41±1.06 <sup>st</sup>
$C^*$	4.79±0.73 <sup>st</sup>	11.47±1.01 <sup>st</sup>	8.13±1.16 <sup>t</sup>
Hue	1.21±0.02 <sup>yz</sup>	1.18±0.07 <sup>yz</sup>	1.20±0.07 <sup>yz</sup>
<b>C</b>			
$L^*$	46.30±1.02 <sup>xy</sup>	46.64±1.06 <sup>st</sup>	46.47±0.75 <sup>t</sup>
$a^*$	3.38±0.25 <sup>yz</sup>	5.44±0.72 <sup>yz</sup>	4.41±0.45 <sup>t</sup>
$b^*$	5.02±1.77 <sup>xy</sup>	10.01±0.55 <sup>yz</sup>	7.51±0.85 <sup>st</sup>
$C^*$	6.15±1.54 <sup>xy</sup>	11.44±0.76 <sup>st</sup>	8.79±0.90 <sup>st</sup>
Hue	0.99±0.12 <sup>xy</sup>	1.08±0.04 <sup>st</sup>	1.04±0.05 <sup>t</sup>
<b>PNM<sub>50</sub></b>			
$L^*$	48.55±0.66 <sup>yz</sup>	51.00±0.74 <sup>yz</sup>	49.77±0.58 <sup>t</sup>
$a^*$	2.96±0.67 <sup>yz</sup>	5.93±0.60 <sup>yz</sup>	4.44±0.53 <sup>t</sup>
$b^*$	6.49±1.47 <sup>yz</sup>	11.18±1.26 <sup>yz</sup>	8.83±0.86 <sup>t</sup>
$C^*$	7.17±1.53 <sup>yz</sup>	12.70±1.30 <sup>yz</sup>	9.94±0.94 <sup>t</sup>
Hue	1.17±0.06 <sup>yz</sup>	1.07±0.05 <sup>st</sup>	1.12±0.04 <sup>yz</sup>
<b>PNM<sub>100</sub></b>			
$L^*$	45.92±0.57 <sup>st</sup>	47.28±0.80 <sup>st</sup>	46.60±0.62 <sup>st</sup>
$a^*$	2.10±0.49 <sup>xy</sup>	4.83±0.78 <sup>st</sup>	3.46±0.64 <sup>y</sup>
$b^*$	6.45±1.43 <sup>yz</sup>	9.65±0.93 <sup>st</sup>	8.08±0.62 <sup>y</sup>
$C^*$	6.92±1.47 <sup>yz</sup>	10.89±1.02 <sup>st</sup>	8.91±0.75 <sup>y</sup>
Hue	0.74±0.04 <sup>st</sup>	1.11±0.06 <sup>st</sup>	0.93±0.24 <sup>t</sup>

t, x, y and z: Values in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).  
a and b: Values in the same row with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

## DISCUSSION

A much-awaited breakthrough in the aquaculture industry is the successful replacement of fish meal with plant substitutes in fish feed. Many research has been carried out for several years on the use of different plant-

based protein sources instead of fish meal and soybean meal (also plant based protein source) as a source of protein in fish feeds (Bilguven & Baris, 2011; Da et al., 2012; Yuangsoi et al., 2014; Emadi et al., 2014; Dernekbaşı & Karayücel, 2017). In addition to these studies, this study aims to reveal the effects of adding different amounts of peanut meal instead of soybean meal in rainbow trout diet on growth performance, biochemical composition and fillet color of rainbow trout. The results of the present study indicated that PNM<sub>50</sub> could be included in the diet of rainbow trout up to a level of %50, which could replace soybean meal, without depressing growth performance and feed utilization. Moreover, according to the control group, the addition of 100% peanut meal (PNM<sub>100</sub>) instead of soybean meal in rainbow trout diets showed a good growth performance, but when the feed conversion ratios were compared, the PNM<sub>50</sub> group came to the fore. In different studies reported that the use of plant-based protein sources at different rates in fish feed does not have a negative effect on the growth and feed conversion rates of the studied species (*Clarias gariepinus*: Fagbenro et al., 2010; *Oreochromis niloticus*: Da Silva et al., 2017; *Oncorhynchus mykiss*: Dernekbaşı et al., 2017; Dernekbaşı & Karayücel, 2017; *Acipenser gueldenstaedtii*: Emre et al., 2018).

When the biometric index values were examined, VSI values of rainbow trout fed with feeds containing peanut meal (PNM<sub>50</sub> and PNM<sub>100</sub>) were different from CF and C groups. In studies using alternative vegetable protein sources instead of soybean meal in feeds, it was stated that the VSI value increased (Yigit et al., 2013; Dernekbaşı & Karayücel, 2017; Pradhan et al., 2020). It has been reported that the VSI value can be between 13% and 24% and this value can be associated with fish size and successful feed use (Bugeon et al. 2010; Dernekbaşı & Karayücel, 2017). In the present study, HSI values of PNM<sub>50</sub> and PNM<sub>100</sub> groups containing peanut meal were found to be higher when compared with the CF and C groups. Several studies have reported an increase in HSI values for fish species fed diets containing various plant-based protein sources (canola, wheat gluten, sweet white lupine, and cashew nuts) instead of soybean meal (*Sparus aurata*: Sitjà-Bobadilla et al., 2005; *Gadus morhua*: Hansen et al., 2007; *Cyprinus carpio*: Yigit et al., 2013; *Oreochromis mossambicus*: Pradhan et al., 2020). In addition, Dernekbaşı (2012) reported that the HSI value should be between 1% and 2% for bony fish (*Osteichthyes*). The results of HSI in this study were in line with the literature previous.

Fish body composition was not significantly different among groups, except for protein. In the present study, the level of fillet protein decreased with increasing dietary levels of PNM. Acar & Turker (2018) reported that

there was no harmful impact on the biochemical composition of fish fillet the use of PNM instead of soybean meal in rainbow trout diets. The use of PNM instead of soybean meal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) feeds have been reported to have lowered the protein ratio of fish meat relative to the control group (De Silva et al., 2017). In the same study, the lipid ratios for tilapia fillet fed with PNM<sub>50</sub> added feed were found to be the highest, while the lipid ratios for the PNM<sub>100</sub> added feed group were similar to those for the control group. Conclusions of this research are consistent with our current study. Various studies were documented that plant origin raw materials added instead of soya meal in fish feeds have an effect on protein and lipid ratios in fish fillets (Fagbenro et al., 2010; Jimoh et al., 2013; Dernekbaşı et al., 2017; Pradhan et al., 2020). The differences between the previous studies and the present research are believed to be due to the digestibility of the raw materials of plant origin added instead of the soybean meal.

In fish, color is far more than a superficial effect; customers equate nutritious and high-quality items with natural coloration. Muscle pigmentation in farmed salmonids, for example, is considered the most significant quality parameter after freshness. The variability of the intra-fillet color was another important aspect. There was no interaction between sampling location and diet, indicating that all fillets were presented with the same color difference in the different locations analyzed. It has been reported in studies that the measurement location has a very important effect on fish fillets (De Francesco et al., 2004). As regards fillet color, some differences were observed at each of the two points of measure. The qualities of redness, yellowness and hue were distinct between the diets in the dorsal and caudal locations. At all the measured regions in the C and CF groups did not result in any significant difference for chroma. It is assumed that the differences between the measured regions in L\*, a\*, b\* are due to the fillet thickness and the preservation of the fillet coloring matter. Color changes in fish fillets, which are usually caused by feed ingredients, can have a negative effect if they do not meet the expectations of customers. Considering the average values in fish fillet color analysis, lightness, redness, yellowness and chroma values came to the fore in the PNM<sub>50</sub> group. However, it cannot be clearly stated that the addition of PNM to feeds instead of soybean meal affects the color of fish fillets. Because the feeds used in the experiment were contained raw materials such as corn protein that affect the color of fish fillets. There is no literature on the effect of peanut meal added to fish feeds on fish fillet color. Previous studies consist of the effects of fish fed with feed containing high carotene containing vegetable raw materials on the color of the fillet (Skonberg

et al., 1998; De Francesco et al., 2004; Herath et al., 2016; Yanar et al., 2016; Shekarabi et al., 2020).

## CONCLUSION

The use of peanut meal instead of soybean meal in the rainbow trout diet did not affect the growth negatively. Also, rainbow trout, which was fed with 50 % PNM added instead of soybean meal, grew relatively well compared to the CF and C groups. Further study to determine the impact on biochemical composition of fish fillet by detailing the use of peanut meal in fish feed instead of soybean meal should be carried out. As a result, it is thought that by using a peanut meal, a local product, in rainbow trout feeds instead of soybean meal, it can produce a lower-cost feed.

## REFERENCES

- Acar, U. & Turker, A. (2018).** The effects of using peanut meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets on the growth performance and some blood parameters. *Aquaculture Studies*, *18*(2), 5-13.
- Anonymous. (2020a).** <https://www.nationalpeanutboard.org/peanut-info/peanut-country-usa.htm#:~:text=As%20of%202019%2C%20the%20United,%2C%20Burma%2C%20Argentina%20and%20Senegal>. (Date of Access 17.12.2020).
- Anonymous. (2020b).** <https://www.atlasbig.com/en-us/countries-peanut-production> (Date of Access 17.12.2020).
- AOAC. (1995).** *Official Methods of Analysis of AOAC International*. AOAC Int., Gaithersburg MD.
- Aydin, B. & Gumus, E. (2016).** Balık yemlerinde alternatif hammadde kaynağı: Kurutulmuş damıtma kalıntıları ve çözünür maddeleri (DDGS). *Journal of Anatolian Environmental & Animal Sciences*, *1*(3), 87-91.
- Batal, A., Dale, N. & Cafe, M. (2005).** Nutrient composition of peanut meal. *Journal of Applied Poultry Research*, *14*, 254-257.
- Bilguven, M. & Baris, M. (2011).** Effects of the feeds containing different plant protein sources on growth performance and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, W.). *Turkish Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, *11*(3), 345-350.
- Brown, P.B., Kaushik, S.J. & Peres, H. (2008).** *Protein feedstuffs originating from soybeans. Alternative protein sources in aquaculture diets (205-223pp)*. New York: The Haworth press, Taylor and Francis group.
- Bugeon, J., Lefevre, F., Cardinal, M., Uyanık, A., Davenel, A. & Haffray, P. (2010).** Flesh quality in large rainbow trout with high or low fillet yield. *Journal of Muscle Foods*, *21*(4), 702-721.

- Caruso, G. (2015).** Use of plant products as candidate fish meal substitutes: An emerging issue in aquaculture productions. *Fisheries and Aquaculture Journal*, *6*(3), 1.
- Collins, S.A., Desai, A.R., Mansfield, G.S., Hill, J.E., van Kessel, A.G. & Drew, M.D. (2012).** The effect of increasing inclusion rates of soybean, pea and canola meals and their protein concentrates on the growth of rainbow trout: concepts in diet formulation and experimental design for ingredient evaluation. *Aquaculture*, *344*, 90-99 DOI: [10.1016/j.aquaculture.2012.02.018](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.018)
- Da, C.T., Lundh, T. & Lindberg, J.E. (2012).** Evaluation of local feed resources as alternatives to fish meal in terms of growth performance, feed utilisation and biological indices of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*) fingerlings. *Aquaculture*, *364*, 150-156.
- Da Silva, R.L., Damasceno, F.M., Rocha, M.K.H.R., Sartori, M.M.P., Barros, M.M. & Pezzato, L.E. (2017).** Replacement of soybean meal by peanut meal in diets for juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Latin American Journal of Aquatic Research*, *45*(5), 1044-1053.
- Deng, J., Mai, K., Ai, Q., Zhang, W., Wang, Y., Xu, W. & Liufu, Z. (2006).** Effects of replacing fish meal with soy protein concentrate on feed intake and growth of juvenile Japanese flounder, (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, *258*, 503-513.
- Dernekbaşı, S. (2012).** Digestibility and liver fatty acid composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed by graded levels of canola oil. *Turkish Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, *12*, 105-113.
- Dernekbaşı, S. & Karayücel, I. (2017).** Partial replacement of soybean meal by peanut and sesame seed meals in practical diets for rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *J Aquac Mar Biol*, *6*(1), 00146.
- Dernekbaşı, S., Karayücel, İ. & Parlak Akyuz, A. (2017).** Evaluation of sesame (*Sesamum indicum*) seed meal as a replacer for soybean meal in the diets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *34*(1), 31-39. DOI: [10.12714/egejfas.2017.34.1.05](https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.1.05)
- De Francesco, M., Parisi, G., Médale, F., Lupi, P., Kaushik, S.J. & Poli, B.M. (2004).** Effect of long-term feeding with a plant protein mixture based diet on growth and body/fillet quality traits of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, *236*(1-4), 413-429.
- De Silva, S.S. & Turchini, G.M. (2009).** Use of wild fish and other aquatic organisms as feed in aquaculture-A review of practices and implications in the Asia-Pacific. In M. R. Hasan, & M. Halwart (Eds.), Fish as feed inputs for aquaculture: Practices, sustainability and implications. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 518. Rome, FAO. 63–127pp.
- Emadi, H., Mokhayer, B. & Faal, M. (2014).** Alternative role of sesame seed replacing fish meal in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, *13*(3), 608-620.
- Emre, N., Guroy, D., Yalim, F.B., Emre, Y., Guroy, B., Mantoglu, 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*). *LimnoFish*, *4*(3), 169-176. DOI: [10.17216/limnofish.460773](https://doi.org/10.17216/limnofish.460773)
- Fagbenro, O.A., Adeparusi, E.O. & Jimoh, W.A. (2010).** Nutritional evaluation of sunflower and sesame seed meal in *Clarias gariepinus*: An assessment by growth performance and nutrient utilization. *African Journal of Agricultural Research*, *5*(22), 3096-3101.
- Francis, G., Makkar, H.P.S. & Becker, K. (2001).** Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*, *199*(3-4), 197-227.
- Goes, R.H.T.B., Mancio, A.B., Valadares Filho, S.C. & Lana, R.P. (2004).** Degradação ruminal da matéria seca e proteína bruta, de alimentos concentrados utilizados como suplementos para novilhos. *Ciência e Agrotecnologia*, *28*(1), 167-173.
- Guo, Y.X., Dong, X.H., Tan, B.P., Chi, S.Y., Yang, Q.H., Chen, G. & Zhang, L. (2011).** Partial replacement of soybean meal by sesame meal in diets of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture Research*, *42*, 1298-1307.
- Hansen, A.C., Rosenlund, G., Karlsen, Ø., Koppe, W. & Hemre, G.I. (2007).** Total replacement of fish meal with plant proteins in diets for Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) I-Effects on growth and protein retention. *Aquaculture*, *272*, 599-611.
- Hedrera, M.I., Galdames, J.A., Jimenez-Reyes, M.F., Reyes, A.E., Avendaño-Herrera, R., Romero, J. & Feijóo, C.G. (2013).** Soybean meal induces intestinal inflammation in zebrafish larvae. *PLoS ONE*, *8*(7), e69983. DOI: [10.1371/journal.pone.0069983](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069983)
- Herath, S.S., Haga, Y. & Satoh, S. (2016).** Effects of long-term feeding of corn co-product-based diets on growth, fillet color, and fatty acid and amino acid composition of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, *464*, 205-212.
- Jimoh, W.A., Aderolu, A.Z., Ayeloja, A.A. & Shodamola, M.O. (2013).** Replacement value of soybean meal with luffa cylindrical in diet of *Clarias gariepinus* fingerlings. *International Journal of Applied Agriculture & Apiculture Research*, *9*(1-2), 98-105.
- Kestin, S.C. & Warriss, P.D. (2001).** *Farmed fish quality*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, Fishing News Books. 2001. ISBN 0-85238-260-X.

- O'Keefe, T. (2003).** Plant protein ingredients for aquaculture feeds: Use considerations & quality standards. *Seeds*, 5, 04-597.
- Pradhan, C., Divi, B.G., Dileep, N., Peter, N. & Sankar, T.V. (2020).** Replacement of soya bean meal with cashew nut meal as an alternative protein source in the diet of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Aquaculture Research*, 51(4), 1660-1672.
- Sitjà-Bobadilla, A., Peña-Llopis, S., Gómez-Requeni, P., Médale, F., Kaushik, S. & Pérez-Sánchez, J. (2005).** Effect of fish meal replacement by plant protein sources on non-specific defence mechanisms and oxidative stress in gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, 249, 387-400.
- Shekarabi, S.P.H., Omidi, A.H., Dawood, M.A., Adel, M., Avazeh, A. & Heidari, F. (2020).** Effect of black mulberry (*Morus nigra*) powder on growth performance, biochemical parameters, blood carotenoid concentration, and fillet color of rainbow trout. *Annals of Animal Science*, 20(1), 125-136.
- Skonberg, D.I., Hardy, R.W., Barrows, F.T. & Dong, F.M. (1998).** Color and flavor analyses of fillets from farm-raised rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed low-phosphorus feeds containing corn or wheat gluten. *Aquaculture*, 166(3-4), 269-277.
- Soares, C.M., Hayashi, C., Faria, A.C.E.A. & Furuya, W.M. (2001).** Substituição da proteína do farelo de soja pela proteína do farelo de canola em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 30(4), 1172-1177.
- Tacon, A.G.J., Hasan, M.R. & Metian, M. (2011).** Demand and supply of feed ingredients for farmed fish and crustaceans: trends and prospects. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper. No. 564. Rome: FAO.
- Thoenes, P. (2014).** Background paper for the Competitive Commercial Agriculture in Sub-Saharan Africa (CCAA) Study. Soya bean International Commodity Profile. Markets and Trade Division Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Turchini, G.M., Francis, D.S., Senadheera, S.P.S.D., Thanuthong, T. & De Silva, S.S. (2011).** Fish oil replacement with different vegetable oils in Murray cod: Evidence of an "omega-3 sparing effect" by other dietary fatty acids. *Aquaculture*, 315(3-4), 250-259. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2011.02.016
- Wang, Y.R., Wang, L., Zhang, C.X. & Song, K. (2017).** Effects of substituting fishmeal with soybean meal on growth performance and intestinal morphology in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). *Aquaculture Reports*, 5, 52-57. DOI: 10.1016/j.aqrep.2016.12.005
- Yanar, M., Büyükçapar, H.M. & Yanar, Y. (2016).** Effects of hot and sweet red peppers (*Capsicum annum*) as feed supplements on pigmentation, sensory properties and weight gain of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Annals of Animal Science*, 16(3), 825-834.
- Yildirim, O., Acar, U., Turker, A., Sunar, M.C. & Kesbic, O.S. (2014).** Effects of replacing fish meal with peanut meal (*Arachis hypogaea*) on growth, feed utilization and body composition of Mozambique tilapia fries (*Oreochromis mossambicus*). *Pakistan Journal of Zoology*, 46(2), 497-502.
- Yigit, M., Erdem, M., Koshio, S., Ergun, S., Turker, A. & Harmantepe, F.B. (2006).** Substituting fish meal with poultry by product meal in diets for Black Sea Turbot *Psetta maotica*. *Aquaculture Nutrition*, 12, 340-347. DOI: 10.1111/j.1365-2095.2006.00409.x
- Yigit, N.Ö., Dulluc, A., Koca, S.B. & Didinen, B.I. (2013).** Aynalı sazın (*Cyprinus carpio*, L. 1758) yemlerinde soya küspesi yerine kanola küspesi kullanımının büyüme ve vücut kompozisyonu üzerine etkisi. *Tarım Bilimleri Dergisi /Journal Of Agricultural Sciences*, 19, 140-147
- Yuangsoi, B., Klahan, R. & Charoenwattanasak, S. (2014).** Partial replacement of protein in soybean meal by moringa seed cake (*Moringa oleifera*) in bocourti's catfish (*Pangasius bocourti*). *Songklanakarın Journal of Science & Technology*, 36(2), 125-135.
- Yue, Y.R. & Zhou, Q.C. (2008).** Effect of replacing soybean meal with cottonseed meal on growth, feed utilization, and hematological indexes for juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*. *Aquaculture*, 284, 185-189.
- Zhou, Q.C. & Yue, Y.R. (2010).** Effect of replacing soybean meal with canola meal on growth, feed utilization and hematological indices of juvenile hybrid tilapia, *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*. *Aquaculture Research*, 41(7), 982-990.