

E-ISSN 2618-6365 Vol. 6 Issue 3 **2023**

AQUATIC RESEARCH



<http://aquatres.scientificwebjournals.com>



Chief Editor:

Prof.Dr. Nuray ERKAN, Istanbul-Türkiye
nurerkan@istanbul.edu.tr
ORCID: 0000-0002-0752-8495
Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Co-Editor in Chief:

Prof.Dr. Özkan ÖZDEN, Istanbul-Turkey
ozden@istanbul.edu.tr
ORCID: 0000-0001-8780-480X
Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences

Cover Photo:

Seyithan ER, Istanbul-Turkey
seyithaner.se@gmail.com

Editorial Board:

Prof.Dr. Miguel Vazquez ARCHDALE, Kagoshima-Japan
miguel@fish.kagoshima-u.ac.jp
ORCID: 0000-0003-2640-6992
Institution: Kagoshima University, Faculty of Fisheries, Fisheries Resource Sciences Department

Prof.Dr. Mazlan Abd. GHAFAR, Terengganu-Malaysia
mag@umt.edu.my
ORCID: 0000-0001-9248-5284
Subjects: Fisheries
Institution: University of Malaysia Terengganu, Institute of Oceanography and Environmental

Prof.Dr. Adrian GROZEA, Timișoara-Romania
grozea@animalsci-tm.ro
ORCID: 0000-0002-7978-5247
Institution: Banat's University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Faculty of Animal Science and Biotechnologies

Prof.Dr. Saleem MUSTAFA, Sabah-Malaysia
saleem@ums.edu.my
ORCID: 0000-0003-0533-4029
Subjects: Fisheries, Environmental Sciences, and Engineering
Institution: University of Malaysia Sabah

Prof.Dr. Murat YİĞİT, Çanakkale-Türkiye
muratyigit@comu.edu.tr
ORCID: 0000-0001-8086-9125
Institution: Çanakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Marine Science and Technology

Prof.Dr. Béla URBÁNYI, Hungary-Gödöllő
Urbanyi.Bela@uni-mate.hu
ORCID: 0000-0001-9496-0990
Institution: Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Aquaculture and Environmental Safety

Assoc.Prof.Dr. Athanasios EXADACTYLOS, Nea Ionia Magnesia-Greece
exadact@uth.gr
ORCID: 0000-0003-3858-1958
Subjects: Fisheries
Institution: University of Thessaly (UTH), Department of Ichthyology and Aquatic Environment (DIAE)

Assoc.Prof. Matthew TAN, Australia
matthew.tan@jcu.edu.au
ORCID: 0000-0003-3606-3356
Institution: James Cook University, Centre for Sustainable Tropical Fisheries and Aquaculture (CSTFA) - College of Science & Engineering

Assoc.Prof.Dr. E. Gözde BAYRAM, Istanbul-Türkiye
gozde.ozbayram@istanbul.edu.tr
ORCID: 0000-0002-5416-0611
Institution: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences



Publisher Nuray Erkan Özden

Copyright © 2023 ScientificWebJournals Web Portal

Address: Abdi Bey Sok. KentPlus Kadıköy Sitesi B Blok No: 24B D. 435 Kadıköy/İstanbul, Türkiye

E-mail: swj@scientificwebjournals.com

for submission instructions, subscription, and all other information visits

<http://aquatres.scientificwebjournals.com>



Aims and Scope

AQUATIC RESEARCH

Abbreviation: **Aquat Res**

e-ISSN: **2618-6365**

Journal published in one volume of four issues per year by

<http://aquatres.scientificwebjournals.com> web page

“**Aquatic Research**” journal aims to contribute to the literature by publishing manuscripts at the highest scientific level in all marine and aquatic sciences fields. The journal publishes original research and reviews articles prepared by ethical guidelines. The publication language of the journal is English or Turkish, and continued publication since 2018.

Aquatic Biology, Aquatic Ecology, Aquatic Environment and Pollutants, Aquaculture, Conservation and Management of Aquatic Source, Economics and Management of Fisheries, Fish Diseases and Health, Fisheries Resources and Management, Genetics of Aquatic Organisms, Limnology, Maritime Sciences, Marine Accidents, Marine Navigation, and Safety, Marine and Coastal Ecology, Oceanography, Seafood Processing, and Quality Control, Seafood Safety Systems, Sustainability in Marine and Freshwater Systems The target audience of the journal includes specialists and professionals working and interested in all disciplines of marine and aquatic sciences.

Manuscripts submitted to the “**Aquatic Research**” journal will go through a double-masked peer-review process. Each submission will be reviewed by at least two external, independent peer reviewers who are experts in their fields to ensure an unbiased evaluation process. The editorial board will invite an external and independent editor to manage the evaluation processes of manuscripts submitted by editors or by the editorial board members of the journal. Our journal will be published quarterly in English or Turkish language.

The journal’s target audience includes specialists and professionals working and interested in all disciplines of marine and aquatic Sciences.

The editorial and publication processes of the journal are shaped by the guidelines of the International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), World Association of Medical Editors (WAME), Council of Science Editors (CSE), Committee on Publication Ethics (COPE), European Association of Science Editors (EASE), and National Information Standards Organization (NISO). The journal conforms to the principles of

Transparency and Best Practice in Scholarly Publishing (doaj.org/bestpractice).

“**Aquatic Research**” journal is indexed in TR Dizin, Clarivate Zoological Record, FAO/AGRIS, SciLit, and Bielefeld Academic Search Engine (BASE).

Processing and publication are free of charge with the journal. No fees are requested from the authors at any point throughout the evaluation and publication process. All manuscripts must be submitted via the online submission system, which is available at

<http://dergipark.gov.tr/journal/2277/submission/start>

The journal guidelines, technical information, and the required forms are available on the journal’s web page.

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the publisher, ScientificWebJournals Web Portal, editors, editorial board, and/or publisher; the editors, editorial board, and publisher disclaim any responsibility or liability for such materials.

All published content is available online, free of charge, at <http://aquatres.scientificwebjournals.com>.



Editor in Chief:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Address: Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Food Safety, Kalenderhane Mah. 16 Mart Şehitleri Cad. No: 2, 34134 Fatih/Istanbul, Türkiye

E-mail: nurerkan@istanbul.edu.tr



Vol. 6 Issue 3 Page 166-232 (2023)

Content

Research Articles

- 1. Effects of black cumin and grape powder mix on growth performance and hepatopancreas histology in third instars of *Pontastacus* 166-174**
Yavuz MAZLUM Metin YAZICI Çiğdem ÜRKÜ Seval BAHADIR KOCA
- 2. Ilıman iklim kuşağındaki bir kıyusal ırmak-sulak alanında pelajik mikrobiyal su kalitesinin zamansal ve mekânsal değişimi 175-188**
Beyhan TAŞ Halim TOPALDEMİR Fikret USTAOĞLU Zeynep KOLOREN
- 3. Farklı LED ışıklar altında yetiştirilen köksüz su mercimeğinin (*Wolffia arrhiza*) Dumas yöntemi kullanılarak ham protein içeriğinin belirlenmesi 189-200**
Beyhan TAŞ Faruk Tolga ŞENGÜLLENDİ
- 4. Assessing eutrophication vulnerability in Köyceğiz Lake: Climate change and basin developments impact trophic status 201-226**
Elif ATASOY AYTİŞ Elif SOYER Ali ERTÜRK

Short Communication

- 5. Occurrence of *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1792) (Aulopidae) in the Turkish Aegean Sea (Sığacık Bay, E. Mediterranean) 227-232**
Okan AKYOL



Effects of black cumin and grape powder mix on growth performance and hepatopancreas histology in third instars of *Pontastacus leptodactylus*

Yavuz MAZLUM¹, Metin YAZICI¹, Çiğdem ÜRKÜ², Seval BAHADIR KOCA³

Cite this article as:

Mazlum, Y. Yazıcı, M., Ürkü, Ç., Bahadır Koca, S. (2023). Effects of black cumin grape powder mix on growth performance and hepatopancreas histology in third instars of *Pontastacus leptodactylus*. *Aquatic Research*, 6(3), 166-174. <https://doi.org/10.3153/AR23017>

¹ Iskenderun Technical University, Faculty of Marine Science and Technology, Iskenderun, Hatay, Türkiye

² Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Aquaculture and Fish Diseases, Istanbul, Türkiye

³ Isparta Applied Sciences University, Egirdir Fisheries Faculty, Isparta, Türkiye

ORCID IDs of the author(s):

Y.M. 0000-0002-9547-0966

M.Y. 0000-0002-7011-886X

Ç.Ü. 0000-0003-0381-9321

S.B.K. 0000-0002-7507-3816

Submitted: 11.04.2023

Revision requested: 18.05.2023

Last revision received: 20.05.2023

Accepted: 21.05.2023

Published online: 19.06.2023

Correspondence:

Yavuz MAZLUM

E-mail: yavuz.mazlum@iste.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://aquatres.scientificwebjournals.com>

ABSTRACT

This study investigated the effects of dietary supplementation of combined black cumin (BC) and grape seed (GS) powder at different rates (0%, 1%, 2%, and 4%, respectively) on growth performance and hepatopancreas histology of third instar Turkish narrow-clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*). A total of 180 third instar of crayfish with an initial mean weight of (0.06 g ±0.01 g) and mean length (11.0 mm ±0.01) were randomly assigned to four treatment groups with three replications in each group and at a density of 15 crayfish per replicate. Crayfish were fed an experimental diet rate of at 10% of total body weight for 84 days. Growth performance parameters were improved significantly with BC and GS powder supplementation (P<0.05), while survival rates did not differ among all groups (P>0.05). Weight gain, specific growth rate and feed conversion rate of the 1% group tended to be better than the other groups, with significant differences among groups (P<0.05). The number and volume of B cells increased significantly with the increase in the amount of (BC and GS) added to the feed (1, 2, and 4%) in the hepatopancreas. In addition, it was determined that the R cells, which absorb nutrients, are dense in the hepatopancreas tissue of the crayfish fed with 1% (BC and GS) added feed compared to the other groups. The results showed that dietary supplementation of 1% BC and GS could benefit third-instar crayfish's growth and histological data. Therefore, combining BS and GS can be recommended as a promising new feed additive for narrow-clawed crayfish culture.

Keywords: Medical plants, Freshwater Crayfish, *Nigella sativa*, *Vitis vinifera*, Growth, Survival

Introduction

The Turkish narrow-clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) is a decapod crustacean (Decapoda: Astacidae) native to the freshwater habitat of the northeastern part of Türkiye (Crandall and Grave, 2017). *P. leptodactylus* exhibit several physical, biological, and commercial characteristics that make them suitable candidates for aquaculture (Mazlum and Yılmaz, 2006). *P. leptodactylus* play critical ecological roles as planktonic grasslands, epibenthic scavengers or prey species. They are important as indicator species for freshwater lakes, dams, and stream habitat quality (Reynolds et al., 2013) conservation biology. The fact that *P. leptodactylus* is the only domestic crayfish species in Türkiye has high economic value and is an export product increases the demand for crayfish. Türkiye has a wide distribution of water resources, and its production is based on hunting. Until now, there is no record of its cultivation in Türkiye. However, in 2015, a crayfish hatchery was built in Egirdir Institute, the first and only closed recirculating system. *P. leptodactylus* production from fishing reached 1011 tonnes in 2021 (TUIK, 2021).

The significant constraints on the cultivation of crayfish are that they have a prolonged egg incubation and larval feeding period and are susceptible to crayfish plague (Svoboda et al., 2014; Mazlum et al., 2021). *P. leptodactylus*, like many other farmed aquatic species, are more sensitive to physical and physiological conditions during their larval stages and more vulnerable to diseases (Mazlum et al., 2017). These situations are one of the most important parts of crayfish production. Success in this period directly affects crayfish production.

One of the most important factors in overcoming these challenges is proper nutrition, which is effective in maintaining the growth and health of aquatic organisms (Sönmez et al., 2020). Prepared rations provide essential nutrients for the physiological functions of aquatic organisms but also mediate the intake of other components that may positively affect health (Li and Gatlin, 2004). Today, studies are carried out in which many functional feed additives, including probiotics (Hoseinifar et al., 2019), prebiotics (Yazici et al., 2020), medicinal and aromatic plants (Yazici et al., 2022), macro/microalgae etc. (Hoseinifar et al., 2022) are tested in order to increase the growth performance and survival rate in aquaculture.

Medicinal plants and their derivatives are considered promising as feed additives in aquaculture due to their many properties (Li et al., 2019). The most prominent features of medicinal plants are that they have bioactive compounds with no side effects, inexpensive, biodegradable, easy to access, and

environmentally friendly (Tadese et al., 2022). For this reason, medicinal plants have been widely adapted for a long time in aquaculture as they improve the performance and health status of aquatic animals (Hoseinifar et al., 2018; Jeyavani et al., 2022; Mariappan et al., 2023).

More than 60 different medicinal plants are considered feed additives in aquaculture (Bulfon et al., 2015). One of these plants, Black cumin (*Nigella sativa*), is a medicinal plant native to Southern Europe, North Africa, and Southwest Asia. This plant is grown in many world countries, such as Iran, Pakistan, India, Türkiye and Saudi Arabia, the Middle East Mediterranean region, and Southern Europe (Yılmaz et al., 2022). *N. sativa* powder is a rich source of protein, crude oil, crude fibre and macro minerals and is composed of protein (26.7%), lipid (28.5%), carbohydrates (24.9%), and fibre (8.4%), and ash (4.8%). The rest comprises sugar mineral substances (Nickavar et al., 2003). The main active ingredients are thymol, thymohydroquinone, thymoquinone, carvacrol and thymoquinone (Abd El-Hack et al., 2021). It was exhibited that black cumin and its derivatives have some advantageous features such as immunostimulant (Dorucu et al., 2009; Altunoglu et al., 2017), growth-promoting (Öz et al., 2018; Bektaş et al., 2019), antioxidants (Yonar, 2017), antimicrobial activities (Khondoker et al., 2016; Hal et al., 2021) for farmed fish. Additionally, using *N. sativa* or its derivatives as a supplement in fish diets protects against fish pathogens (Khondoker et al., 2016; Hal et al., 2021).

Another medicinal plant is grape seed, which is rich in polyphenolic compounds with potent biological effects. These polyphenols, consisting of flavonoids and phenolic acids (Mekrinakhi et al., 2020), have antioxidant (Souza et al., 2019) and antibacterial activity (Ahmad et al., 2014). Grape seed has a complex composition, and the constituents of the composition were determined as 11% protein, 16% fat, 40% fibre, and 7% phenolic compounds. Some researchers have reported that grape seed extract has a positive effect on growth performance (Kesbiç and Yiğit, 2019), antioxidant defence (Mousavi et al., 2020) and immune system in farmed fish (Arslan et al., 2018; Mehrinakhi et al., 2020).

It is thought that medicinal plants as feed additives will contribute to this growth in yield, quality, and income increase. Furthermore, some studies have reported that combining herbal powders is more effective than a single herb administration (AbdelWahab and El-Bahr, 2012). However, there is limited research on combining herbal extracts as a new strategy to enhance crayfish performance and improve health status. Hence, the present study investigated the synergistic ef-

fect of dietary administration of *N. sativa* and *V. vinifera* mixture on the growth performance and some hepatopancreatic histological parameters of narrow-clawed crayfish *P. leptodactylus*.

Materials and Methods

Ovigerous female (n=45) narrow-clawed crayfish weighing 41.8 g and a total length of 109.6 mm were collected from Lake Eğirdir in 2023, using fyke-net (16 mm mesh size) fed with frozen fish. The caught female crayfish with eggs were packed and shipped by bus to Iskenderun Technical University Hatay Fisheries Research Facilities. Egg-laying female crayfish were stocked in three PVC tanks containing 15 crayfish to acclimate to the experimental environment before starting the research. Potassium permanganate was applied every 3 days to prevent fungal infection. During adaptation, crayfish were fed with sea bass commercial feed. Egg hatching was done in the rearing unit of Iskenderun Technical University, Faculty of Marine Sciences and Technology.

Length (mm) and weight (g) were measured by subsampling from healthy hatched crayfish (n=50) and placed in 12 tanks. A sizing board was used to measure the total length (TL, mm) of the crayfish, and a digital scale with an accuracy of (0.01 g) was used to measure their wet weight (WW, g). One hundred and eighty (n=180) healthy third instar crayfish chosen for the experiment (mean weight 0.06 g ±0.01 g and length 11 mm ±0.01) were randomly placed in four treatment groups of 0% (control group), 1%, 2%, and 4%, respectively. Experimental groups were performed in triplicate with 15 crayfish in each tank. The experimental period was 84 days. Small pipes and pieces of mesh are placed at the bottom of the tank to reduce the contact of the crayfish with each other.

Black cumin (*Nigella sativa*) (BC) and grape seed (GS) powder were purchased from herbalists in the Iskenderun district of Hatay province. The diet in the powder was added to an experimental commercial sea bass diet (0.5 g BC+0.5 g GS powder; 1:1) at a 1g/100 g feed rate. The control group's diet did not include any supplements. The mixture was turned into Alphiel pellet feed with the 3D mixing feature. The prepared feeds were stored in plastic containers at +4°C. In the experiment, crayfish in all groups were fed ad libitum daily for 84 days. The amount of feed was 10% of the total live weight. Inedible feeds and crayfish droppings were siphoned away from all tanks not to deteriorate the water quality.

During the experiment, temperature (°C) and the dissolved oxygen (mg/L) in the water were measured every morning (08:00) using an oxygen meter. pH values are measured weekly with a pH meter. The water used in the experiment

was carried out as a continuously flowing aquaculture system.

The experiment's measurement of growth performance parameters was not done for the first 30 days in order not to harm the offspring due to their very small size, and measurements were made on the 60th and 84th days. At the end of the experiment, crayfish for all groups were counted and weighed to determine the weight, weight gain, specific growth rate, survival rate, and feed conversion by the following equations.

Weight Gain (WG, g)

$$= \text{Final crayfish weight (g)} - \text{Initial crayfish weight (g)}$$

Weight gain rate (WGR, %)

$$= \frac{\text{Final crayfish weight (g)} - \text{Initial crayfish weight (g)}}{\text{Initial crayfish weight (g)}} * 100$$

Specific Growth Rate (SGR)

$$= \frac{\ln \text{Final weight (g)} - \ln \text{Initial weight (g)}}{\text{days}} * 100$$

Feed conversion ratio (FCR)

$$= \frac{\text{Total feed consumption (g)}}{\text{Weight gain (g)}}$$

Survival Rate (SR, %)

$$= \frac{\text{Number of crayfish at the end of experiment}}{\text{Number of crayfish at the beginning of experiment}} * 100$$

On the final day of the experiment, hepatopancreas samples (n= 3) were immediately taken from each treatment group to perform the histological analysis. The samples were fixed in 10% phosphate-buffered formaldehyde, dehydrated in graded serial ethanol, and embedded with paraffin. Subsequently, 4-µm-thick tissue sections were made using a rotary microtome, stained with hematoxylin and eosin (H&E) and examined under a light microscope (Nikon E 600) using a digital camera (Ettore et al., 2017).

The parameters examined in the experiment were tested for significance at the 5% level using a one-way analysis of variance (ANOVA) (P<0.05). Results are given as mean ± standard deviation of the mean (SD). In the data analysis, the homogeneity of variance (ANOVA) test was applied to the data

before comparisons were made among the treatment groups. Data results were tested with the Shapiro-Wilk test for normal distribution. Statistical analyses of the data obtained in the experiment were done using the SPSS 17.0 statistical package program (SPSS INC. Chicago, IL, USA).

Results and Discussion

The water quality values used in this study were within acceptable ranges for crayfish growth (Mazlum, 2007). No statistical difference was observed in mean water temperature, dissolved oxygen and pH ($P>0.05$) during the experiment. The water temperature used in the experiment was average (20.7-21.30 °C), and the dissolved oxygen level varied between 5.8-7.6 mg/l depending on the water temperature during the 84-day experiment period. Rapid aquaculture growth is one factor that significantly affects both feed and animal welfare. In aquaculture, many stress factors, including bacterial infections, have been shown to alter the feeding and growth of aquatic organisms (Farag et al., 2021). Accordingly, in this study, we evaluated whether black cumin seed and grape seed powder affected the growth, survival, and histology of hepatopancreas in narrow-clawed crayfish.

Medicinal plants, which have long been used to improve human nutrition, have recently received significant attention in livestock, poultry, and aquatic animals (El-Deep et al., 2019; Saleh et al., 2019; Shekarabi et al., 2020). Medicinal plants have also attracted the attention of aquaculture researchers every day due to their beneficial effects on fish immunity, antistress, antioxidant, growth promoter and feed digestibility

(Bulfon et al., 2015; Hal et al., 2021; Yılmaz et al., 2022). Such additives can increase the growth of beneficial microbial colonies in the digestive tract, thereby improving growth parameters by increasing feed intake and weight gain of aquatic species (Jeyavani et al., 2022; Mariappan et al., 2023). In addition, increased resistance of aquatic species to infectious diseases following the application of different medicinal plants has also been previously demonstrated (Ahmad et al., 2013; Khondoker et al., 2016; Mehrinakhi et al., 2020).

When the study results were examined, it was shown that BC and GS powder did not negatively affect crayfish's growth performance when 1%, 2% and 4% BC and GS were added to the diet. In contrast, adding different levels of BC and GS powder to the diet significantly affected weight gain, specific growth rate, feed conversion rate and productivity of third-stage crayfish, but not survival rate (Table 1). However, the BC and GS ratio increase partially decreased the feed conversion ratio and survival rate. These results agreed with those obtained by Niroomand et al. 2020, Öz et al., 2018; Bektaş et al., 2019; Latif et al., 2020; Youssif et al., 2020 who found that supplementation of BC and GS powder in fish feed. Since studies on crustaceans are limited, comparisons with other species have been made. This study determined that the experimental feeds prepared to contain different ratios of BC and GS positively affected the growth performance of the experimental group *P. leptodactylus* third instar. While the values in the 1% group were found to be significant compared to the changes in the weight gains of the other groups ($P<0.05$), the change in the weight gain (%) values was not significant ($P>0.05$) (Table 1).

Table 1. Growth performance and feed conversion ratio in narrow clawed crayfish diets for 84 days.

Parameters	Control	BC+GS 1%	BC+GS 2%	BC+GS 4 %
Initial weight (IW, g)	0.06 ±0.01	0.06 ±0.01	0.06 ±0.01	0.06 ±0.01
Final weight (FW, g)	0.47 ±0.14 ^a	0.60 ±0.09 ^b	0.40 ±0.09 ^a	0.40 ±0.11 ^a
Weight gain (WG, g)	0.41 ±0.14	0.54 ±0.09	0.34 ±0.09	0.34 ±0.11
Weight gain (WG, %)	683.33	900.00	566.66	700.00
Initial length (ITL, mm)	11.00 ±0.01	11.00 ±0.01	11.00 ±0.01	11.00 ±0.01
Final length (FTL, mm)	27.67 ±3.20 ^a	28.00 ±1.56 ^a	26.00 ±1.56 ^b	25.08 ±1.78 ^b
Length increment (LC, mm)	16.67 ±3.20 ^a	17.00 ±1.56 ^a	15.00 ±1.56 ^b	14.08 ±1.17 ^b
Feed conversion rate (FCR)	1.17 ±0.01 ^a	0.96 ±0.02 ^b	1.34 ±0.02 ^c	1.20 ±0.01 ^a
Specific growth rate (SGR, %)	0.024 ±0.000 ^a	0.027 ±0.0001 ^b	0.022 ±0.0001 ^a	0.022 ±0.0001 ^b
Survival rate (SR, %)	44.00	75.55	66.66	53.33

IW: initial weight (g), FW: final weight (g), ITL: initial length (mm), FTL: final length (mm), WG: percent weight gain (%), SGR: specific growth rate (%), FCR: feed conversion ratio, SR: survival rate (%). BC and GS

Similar to the results of the current study, *Oreochromis niloticus* fed a 2% black seed supplement diet showed an improved growth rate (Diab et al., 2008). An increase in growth performance was reported in *Cyprinus carpio* larvae fed with a 1% black seed ration (Al-Dubakel, 2012). Similarly, growth rates were increased in *Oncorhynchus mykiss* larvae fed with diets containing 1% and 1.3% black seed oil been reported (Öz et al., 2018). Previous studies have shown that weight gain and growth rate are directly related to the animal's capacity to digest and absorb nutrients (Magouz et al., 2020; Mazlum et al., 2021). The improvement in the growth performance of BC and GS has been attributed to its various bioactive substances (Nickavar et al., 2003; Khondoker et al., 2016; Arslan et al., 2018).

Many environmental and biological factors influence water quality in crayfish farming (Eversole et al., 2004; Roessink et al., 2017). Growth and survival are closely related to water quality. Important water quality variables are dissolved oxygen, pH, hardness, nitrite, and ammonia. Of these, dissolved oxygen is the most important, and low oxygen may be directly or indirectly responsible for the death of crayfish more than any other factor (Foyosal et al., 2020). In addition, considering all these features, it is known that temperature significantly affects oxygen levels. In our study, it was observed that the water quality parameters were within acceptable limits. Moreover, feed quality and feed components are important parameters in the growth of crayfish (Halver and Hardy, 2003). This study observed that the water quality did not change with the addition of medical feed additives to the feed of experimental crayfish.

Crayfish store large amounts of lipids (energy) in the hepatopancreas for oocyte development, survival, digestion, nutrient absorption, immunity, and metabolism (Lu et al., 2023). Several studies have shown that the hepatopancreas undergoes structural changes due to feed additives (Jahromi et al., 2021). Therefore, the general nutritional status of crustaceans can be evaluated by histological studies in the hepatopancreas (Jahromi et al., 2021; Lu et al., 2023). Previous studies have shown that hepatopancreatic R (resorptive) cells (R-cells) can be used to monitor the nutritional value of diets (Vogt et al., 1986; Genç et al., 2007). In this study, BS and GS powder containing different ratios showed healthy histological structures in the control and treatment groups (Figure 1) and are important for lipoprotein metabolism. Absorbent R-cells playing a role were typically found to be normal. The 1% BC and GS group was observed to provide the best recovery in the hepatopancreas (Figure 1). It was determined that the applied doses did not harm the hepatopancreatic tissue; on the contrary, there were improvements.

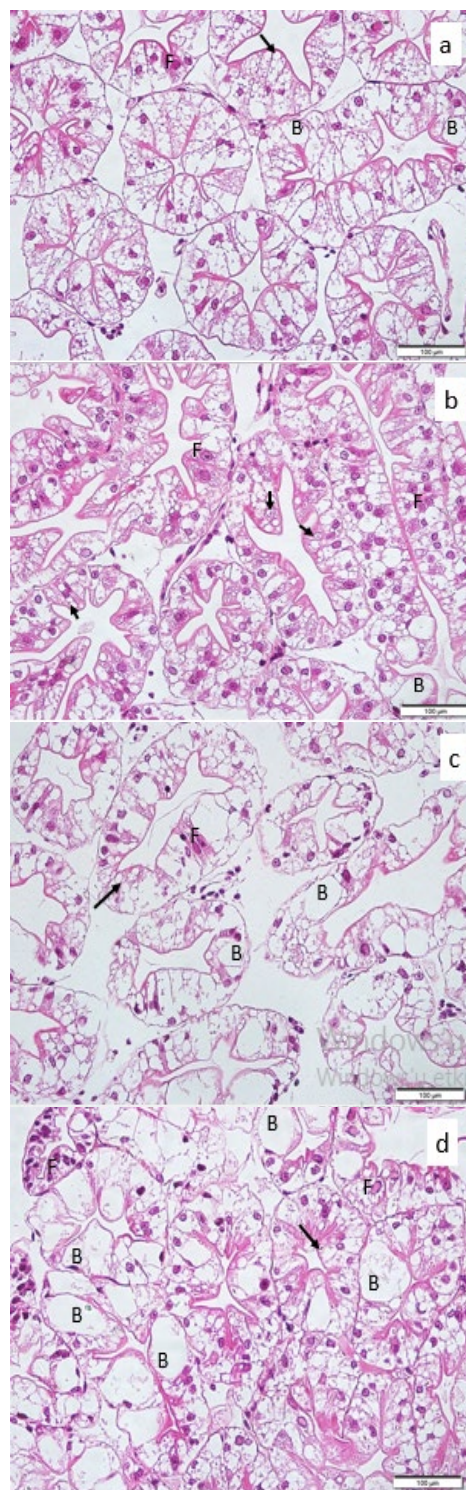


Figure 1. Light photomicrograph of sections hepatopancreatic tissues of *Pontastacus leptodactylus* crayfish fed with BC+GS supplemented feed (a): Control group, (b) 1% BC+GS, (c) 2% BC+GS, (d) 4% BC+GS (B: Blasen-zellen cell, F- Fibrillenzellen or Fibrous cells, Restzellen cells-indicated by arrow) (bar: 120 µm, H&E).

Conclusion

The results indicated that BC and GS powder supplementation helps significantly increase growth performance and survival rates of *P. leptodactylus* when added to their diet. The 1% group's weight gain, specific growth rate and feed conversion rate tended to be better than the other groups, with significant differences. The use of BC and GS powder together is suggested as a potential candidate for use as a feed additive in intensive aquaculture applications to prevent stress-related losses and ultimately increase production.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interest: The authors declare that they have no actual, potential, or perceived conflict of interest for this article.

Ethics committee approval: Animal care and experiments were carried out considering national and international guidelines.

Funding disclosure: -

Acknowledgments: -

Disclosure: -

References

- Abd El-Hack, M.E., Abdelnour, S.A., Khafaga, A.F., Taha, A.E., & Abdel-Latif, H.M. (2021). *Nigella sativa* seeds and its derivatives in fish feed. Black cumin (*Nigella sativa*) seeds. *Chemistry, Technology, Functionality, and Applications*, 297-315. https://doi.org/10.1007/978-3-030-48798-0_19
- Abdelwahab, A.M., & El-Bahr, S.M. (2012). Influence of black cumin seeds (*Nigella sativa*) and turmeric (*Curcuma longa* Linn.) mixture on performance and serum biochemistry of Asian sea bass, *Lates calcarifer*. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(5), 496-503.
- Ahmad, A., Husain, A., Mujeeb, M., Khan, S.A., Najmi, A.K., Siddique, N.A., & Anwar, F. (2013). A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: A miracle herb. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 3(5), 337-352. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60075-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60075-1)
- Ahmad, W., Khan, M.I., Waqar, M., Khan, M.A., Khan, A., Ramazan, R., ... & Faisal, S. (2014). In vitro antibacterial activity of *Vitis vinifera* leaf extracts against some pathogenic bacterial strains. *Advances in Biological Research*, 8(2), 62-67.
- Al-Dubakel, A.Y., Al-Mhawe, B.H., Majeed, M.F., & Shaeyal, L.W. (2012). Preliminary study on the effect of dietary black seed (*Nigella sativa*) on growth and blood glucose of common carp (*Cyprinus carpio*) fingerlings. *Thi-Qar University Journal for Agricultural Researches*, 2, 2222-5005.
- Altunoglu, Y.C., Bilen, S., Ulu, F., & Biswas, G. (2017). Immune responses to methanolic extract of black cumin (*Nigella sativa*) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 67, 103-109. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.06.002>
- Arslan, G., Sönmez, A.Y., & Yanık, T. (2018). Effects of grape *Vitis vinifera* seed oil supplementation on growth, survival, fatty acid profiles, antioxidant contents and blood parameters in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture Research*, 49(6), 2256-2266. <https://doi.org/10.1111/are.13686>
- Bektaş, Z.H., Savaşer, S., Akçimen, U., Ceylan, M., Yener, O., & Bulut, C. (2019). Using of black cumin seed powder (*Nigella sativa*) as immunostimulant and growth promoter in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 19(12), 987-999.
- Bulfon, C., Volpatti, D., & Galeotti, M. (2015). Current research on the use of plant-derived products in farmed fish. *Aquaculture Research*, 46(3), 513-551. <https://doi.org/10.1111/are.12238>
- Crandall, K.A., & De Grave, S. (2017). An updated classification of the freshwater crayfishes (Decapoda: Astacidea) of the world, with a complete species list. *Journal of Crustacean Biology*, 37(5), 615-653. <https://doi.org/10.1093/jcobiol/rux070>
- d'Ettorre, G., Rossi, G., Scagnolari, C., Andreotti, M., Giustini, N., Serafino, S., ... & Vullo, V. (2017). Probiotic supplementation promotes a reduction in T-cell activation, an increase in Th17 frequencies, and a recovery of intestinal epithelium integrity and mitochondrial morphology in ART-treated HIV-1-positive patients. *Immunity, Inflammation and Disease*, 5(3), 244-260. <https://doi.org/10.1002/iid3.160>

- Diab, A.S., Aly, S.M., John, G., Abde-Hadi, Y., & Mohammed, M.F. (2008). Effect of garlic, black seed and Bio-gen as immunostimulants on the growth and survival of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae), and their response to artificial infection with *Pseudomonas fluorescens*. *African Journal of Aquatic Science*, 33(1), 63-68. <https://doi.org/10.2989/AJAS.2007.33.1.7.391>
- Dorucu, M., Ispir, U., Colak, S., Altinterim, B., & Celayir, Y. (2009). The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 2(1), 27-33. <https://doi.org/10.21608/maj.2009.2667>
- Eversole, A.G., Pylypink, R.L., & Mazlum, Y. (2004). Distribution of *Procambarus acutus acutus* (Girard) in a culture pond. *Freshwater Crayfish*, 14, 99-105.
- Farag, M.R., Alagawany, M., Taha, H.S., Ismail, T.A., Khalil, S.R., & Abou-Zeid, S.M. (2021). Immune response and susceptibility of Nile tilapia fish to *Aeromonas hydrophila* infection following the exposure to Bifenthrin and/or supplementation with *Petroselinum crispum* essential oil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 216, 112205. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112205>
- Foysal, M.J., Fotedar, R., Tay, C.Y., & Gupta, S.K. (2020). Biological filters regulate water quality, modulate health status, immune indices and gut microbiota of freshwater crayfish, marron (*Cherax cainii*, Austin, 2002). *Chemosphere*, 247, 125821. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125821>
- Genc, M.A., Aktas, M., Genc, E., & Yilmaz, E. (2007). Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semi-sulcatus* (de Haan 1844). *Aquaculture Nutrition*, 13(2), 156-161. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2007.00469.x>
- Hal, A.M., & Manal, I. (2021). Effect of *Nigella sativa* oil and ciprofloxacin against bacterial infection on gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) blood. *Aquaculture*, 532, 736071. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736071>
- Halver, J.E., & Hardy, R.W. (2003). Nutrient flow and retention. In *Fish nutrition* (pp. 755-770). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012319652-1/50015-X>
- Hoseinifar, S. H., Sun, Y.Z., Wang, A., & Zhou, Z. (2018). Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in microbiology*, 9, 2429. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02429>
- Hoseinifar, S.H., Van Doan, H., Dadar, M., Ringø, E., & Harikrishnan, R. (2019). Feed additives, gut microbiota, and health in finfish aquaculture. *Microbial communities in aquaculture ecosystem: Improving Productivity and Sustainability*, 121-142. https://doi.org/10.1007/978-3-030-16190-3_6
- Hoseinifar, S. H., Fazelan, Z., Bayani, M., Yousefi, M., Van Doan, H., & Yazici, M. (2022). Dietary red macroalgae (*Halopithys incurva*) improved systemic and mucosal immune and antioxidant parameters and modulated related gene expression in zebrafish (*Danio rerio*). *Fish & Shellfish Immunology*, 123, 164-171. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.02.047>
- Jahromi, S.T., Pourmozaffar, S., Jahanbakhshi, A., Rameshi, H., Gozari, M., Khodadadi, M., & Moezzi, M. (2021). Effect of different levels of dietary *Sargassum cristaefolium* on growth performance, hematological parameters, histological structure of hepatopancreas and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 533, 736130. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736130>
- Jeyavani, J., Sibiya, A., Sivakamavalli, J., Divya, M., Preetham, E., Vaseeharan, B., & Faggio, C. (2022). Phytotherapy and combined nanoformulations as a promising disease management in aquaculture: A review. *Aquaculture International*, 30(2), 1071-1086. <https://doi.org/10.1007/s10499-022-00848-0>
- Kesbiç, O.S., & Yigit, M. (2019). Structural and chemical changes of grape seed extract after thermal processing and its use in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) diets as an organic feed supplement. *Aquaculture*, 503, 275-281. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.01.021>
- Khondoker, S., Hossain, M.M.M., Hasan-Uj-Jaman, M., Alam, M.E., Zaman, M.F.U., & Tabassum, N. (2016). Effect of *Nigella sativa* (Black Cumin Seed) to enhance the immunity of common carp (*Cyprinus carpio*) against *Pseudomonas fluorescens*. *American Journal of Life Sciences*, 4(3), 87-92. <https://doi.org/10.11648/j.ajls.20160403.14>

Latif, M., Faheem, M., Hoseinifar, S. H., & Van Doan, H. (2020). Dietary black seed effects on growth performance, proximate composition, antioxidant and histo-biochemical parameters of a culturable fish, rohu (*Labeo rohita*). *Animals*, 11(1), 48.

<https://doi.org/10.3390/ani11010048>

Li, P., & Gatlin III, D.M. (2004). Dietary brewers yeast and the prebiotic Grobionic™ AE influence growth performance, immune responses and resistance of hybrid striped bass (*Morone chrysops* × *M. saxatilis*) to *Streptococcus iniae* infection. *Aquaculture*, 231(1-4), 445-456.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.08.021>

Lu, Y.P., Zheng, P.H., Xu, J.R., Cao, Y.L., Li, J.T., Hao, C.G., & Wang, A.L. (2023). Effects of dietary *Eucommia ulmoides* leaf extract on growth, muscle composition, hepatopancreas histology, immune responses and microcystin-LR resistance of juvenile red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*). *Fishes*, 8(1), 20.

<https://doi.org/10.3390/fishes8010020>

Magouz, F.I., Dawood, M.A., Salem, M.F., & Mohamed, A.A. (2020). The effects of fish feed supplemented with Azolla meal on the growth performance, digestive enzyme activity, and health condition of genetically-improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Annals of Animal Science*, 20(3), 1029-1045.

<https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0016>

Mariappan, B., Kaliyamurthi, V., & Binesh, A. (2023). Medicinal plants or plants derived compounds used in aquaculture. In *Recent Advances in Aquaculture Microbial Technology* (pp. 153-207). Academic Press.

<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90261-8.00003-1>

Mazlum, Y., & Yılmaz, E. (2006). Culture of the important crayfish species in Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 23(1), 201-205.

Mazlum, Y. (2007). Stocking density affects the growth, survival, and cheliped injuries of third instars of narrow-clawed crayfish, *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 juveniles. *Crustaceana*, 80(7), 803-815.

<https://doi.org/10.1163/156854007781363114>

Mazlum, Y., Turan, F., & Bircan Yıldırım, Y. (2021). Evaluation of mealworms (*Tenebrio molitor*) meal as an alternative protein source for narrow-clawed crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) juveniles. *Aquaculture Research*, 52(9), 4145-4153.

<https://doi.org/10.1111/are.15253>

Mazlum, Y., Gurlek, O.G., & Sirin, S. (2017). Effect of different substrates on survival and growth of juveniles of the freshwater narrow-clawed crayfish *Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823 (Decapoda, Astacidae). *Crustaceana*, 90(11-12), 1289-1302.

<https://doi.org/10.1163/15685403-00003724>

Mehrinakhi, Z., Ahmadifar, E., Sheikhzadeh, N., Moghadam, M.S., & Dawood, M.A. (2020). Extract of grape seed enhances the growth performance, humoral and mucosal immunity, and resistance of common carp against. *Annals of Animal Science*, 21(1), 217-232.

<https://doi.org/10.2478/aoas-2020-0049>

Mousavi, S., Sheikhzadeh, N., Tayefi-Nasrabadi, H., Alizadeh-Salteh, S., Khani Oushani, A., Firouzmandi, M., & Mardani, K. (2020). Administration of grape (*Vitis vinifera*) seed extract to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) modulates growth performance, some biochemical parameters, and antioxidant-relevant gene expression. *Fish physiology and biochemistry*, 46, 777-786.

<https://doi.org/10.1007/s10695-019-00716-4>

Nickavar, B., Mojab, F., Javidnia, K., & Amoli, M.A.R. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 58(9-10), 629-631.

<https://doi.org/10.1515/znc-2003-9-1004>

Niroomand, M., Akbarzadeh, A., Ebrahimi, E., Sobhani, S.A., & Sheikhahmadi, A. (2020). Effects of dietary black cumin seed meal on growth performance, blood biochemistry and fatty acid composition of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 26(4), 1072-1082.

<https://doi.org/10.1111/anu.13065>

Öz, M., Dikel, S., & Durmus, M. (2018). Effect of black cumin oil (*Nigella sativa*) on the growth performance, body composition and fatty acid profile of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 17(4), 713-724.

Reynolds, J., Souty-Grosset, C., & Richardson, A. (2013). Ecological roles of crayfish in freshwater and terrestrial habitats. *Freshwater Crayfish*, 19(2), 197-218.

Roessink, I., Gylstra, R., Heuts, P.G., Specken, B., & Ottburg, F. (2017). Impact of invasive crayfish on water

quality and aquatic macrophytes in the Netherlands. *Aquatic Invasions*, 12(3), 397-404.

<https://doi.org/10.3391/ai.2017.12.3.12>

Saleh, A.A., Kirrella, A.A., Dawood, M.A., & Ebeid, T.A. (2019). Effect of dietary inclusion of cumin seed oil on the performance, egg quality, immune response and ovarian development in laying hens under high ambient temperature. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 103(6), 1810-1817.

<https://doi.org/10.1111/jpn.13206>

Shekarabi, S.P.H., Omid, A.H., Dawood, M.A., Adel, M., Avazeh, A., & Heidari, F. (2020). Effect of black mulberry powder on growth performance, biochemical parameters, blood carotenoid concentration, and fillet color of rainbow trout. *Annals of Animal Science*, 20(1), 125-136.

<https://doi.org/10.2478/aoas-2019-0068>

Souza, C.F., Baldissera, M.D., Descovi, S.N., Zeppenfeld, C.C., Verdi, C.M., Santos, R.C., & Baldisserotto, B. (2019). Grape pomace flour alleviates *Pseudomonas aeruginosa*-induced hepatic oxidative stress in grass carp by improving antioxidant defense. *Microbial Pathogenesis*, 129, 271-276.

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.02.024>

Sönmez, H., Yazici, M., & Özer, S. (2020). Effects of Gro-biotic®-A on growth, whole body composition, and intestinal histology of endangered brown trout (*Salmo trutta macrostigma*). *Marine and Life Sciences*, 2(2), 105-112.

Svoboda, J., Strand, D. A., Vrålstad, T., Grandjean, F., Edsman, L., Kozák, P., ... & Petrusek, A. (2014). The crayfish plague pathogen can infect freshwater-inhabiting crabs. *Freshwater Biology*, 59(5), 918-929.

<https://doi.org/10.1111/fwb.12315>

Tadese, D.A., Song, C., Sun, C., Liu, B., Liu, B., Zhou, Q., & Kevin, N.T. (2022). The role of currently used medicinal plants in aquaculture and their action mechanisms: A review. *Reviews in Aquaculture*, 14(2), 816-847.

<https://doi.org/10.1111/raq.12626>

TUIK (2021). Fishery Statistics. <https://data.tuik.gov.tr/Buluten/Index?p=Su-Urunleri-2021-45745>

Access date 15.06.2023

Vogt, G., Qunitio, E.T., & Pascual, F.P. (1986). *Leucaena leucocephala* leaves in formulated feed for *Penaeus monodon*: A concrete example of the application of histology in nutrition research. *Aquaculture*, 59(3-4), 209-234.

[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90005-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90005-0)

Yazici, M., Mazlum, Y., Naz, M., Sayın, S., Ürkü, Ç., & Akaylı, T. (2020). Effects of GroBiotic®-A supplementation on growth performance, body composition and liver and intestine histological changes in European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 37(4), 389-396.

<https://doi.org/10.12714/egejfas.37.4.10>

Yazici, M., Mazlum, Y., Naz, M., Ürkü, Ç., Türkmen, M., & Akaylı, T. (2022). Effects of adding laurel (*Laurus nobilis*) essential oil to the diet of tilapia fish on growth and intestinal histology. *Aquatic Sciences and Engineering*, 37(4), 195-204.

<https://doi.org/10.26650/ASE20221101489>

Yılmaz, S., Ergün, S., Yiğit, M., & Yılmaz, E. (2022). An extensive review on the use of feed additives against fish diseases and improvement of health status of fish in Turkish aquaculture sector. *Aquaculture Studies*, 22(3), AQUAST710.

<https://doi.org/10.4194/AQUAST710>

Yonar, S.M. (2017). Farklı su sıcaklıklarında tutulan pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)'da çörek otu (*Nigella sativa*) yağının oksidatif stres ve bazı antioksidan parametrelere etkisi. *Türk Tarım - Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5(9), 1039-1043.

<https://doi.org/10.24925/turjaf.v5i9.1038-1043.1231>

Youssif, S., Abouelezz, K.F.M., EL-Kellawy, M.I., & YA, D. (2020). Effect of *Nigella sativa* on growth performance and some blood constituents of Nile Tilapia (*Oreochromis Niloticus*). *Assiut Veterinary Medical Journal*, 66(166), 121-135.

<https://doi.org/10.21608/avmj.2020.167326>



Ilıman iklim kuşağındaki bir kıyısulak sulak alanında pelajik mikrobiyal su kalitesinin zamansal ve mekânsal değişimi

Beyhan TAŞ¹, Halim TOPALDEMİR¹, Fikret USTAOĞLU², Zeynep KOLÖREN¹

Cite this article as:

Taş, B., Topaldemir, H., Ustaoglu, F., Koloren, Z. (2023). Ilıman iklim kuşağındaki bir kıyısulak sulak alanındaki pelajik mikrobiyal su kalitesinin zamansal ve mekansal değişimi. *Aquatic Research*, 6(3), 175-188. <https://doi.org/10.3153/AR23018>

¹ Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye

² Giresun Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Giresun, Türkiye

ORCID IDs of the author(s):

B.T. 0000-0001-6421-2561
H.T. 0000-0002-4494-9715
F.U. 0000-0002-8195-8557
Z.K. 0000-0001-9708-2716

Submitted: 04.05.2023

Revision requested: 25.05.2023

Last revision received: 28.05.2023

Accepted: 30.05.2023

Published online: 27.06.2023

Correspondence:

Zeynep KOLÖREN

E-mail: zeynep.koloren@gmail.com



© 2023 The Author(s)

Available online at

<http://aquatres.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Sulak alanlara antropojenik kaynaklı kirletici yüklerin girmesi su kalitesini hızla bozmaktadır. Bu çalışma, tarımsal faaliyetlerin yoğun olduğu bir bölgede bulunan, kıyısulak sulak alan özelliklerine sahip Miliç Irmağı'nda yapılmıştır. Miliç sulak alanı Terme Ovası'nın drenaj suları ile dağınık yerleşim alanlarından gelen suların Karadeniz'e dökülmeden önce toplandığı bir alıcı ortamdır. Çalışmada, ılıman iklim kuşağında bulunan Miliç Irmağı'nın dört farklı örnekleme noktasından aylık olarak yüzeysel su örnekleri alınıp, fekal indikatörlerden toplam koliform, *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens* kontaminasyonu incelenmiştir. Mikrobiyolojik analizler, membran filtrasyonu ile standart metotlar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Miliç Irmağı'nda farklı istasyonlardaki su numunelerinin ortalama koloni sayısı toplam koliform, *E. coli* ve *C. perfringens* için sırasıyla 2022 KOB/100 mL, 455 KOB/100 mL ve 34 KOB/100 mL olarak belirlenmiştir. En yüksek fekal kontaminasyon yağışlı sezonlarda (kış>sonbahar>ilkbahar>yaz) kaydedilmiştir. İstasyonlar ve mevsimler arasında yapılan korelasyonda en yüksek ilişki *E. coli* için kış ($r=0.985$, $p<0.05$), *C. perfringens* için sonbaharda ($r=0.958$, $p<0.05$) belirlenmiştir. Analiz sonuçları, Miliç kıyısulak sulak alanında fekal kontaminasyonun olduğunu göstermektedir. Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliği'ndeki bakteriyolojik parametrelere göre, sulak alan suyu toplam koliform bakteri sayısı bakımından II. Sınıf su kalitesindedir (az kirlenmiş su). Bu parametre bakımından akarsu-sulak alanın ekolojik durumu "iyi" su sınıfında yer alır. Mikrobiyolojik su kalitesi yönünden, Miliç Irmağı çok kirli olmayan, fakat kirlilik baskısı altında değerlere sahiptir. Fekal kontaminasyon düzeyinin artmaması için sulak alan havzasındaki yerleşim ve tarım alanlardan gelen evsel atıkların/atıksuların, hayvansal gübrelerin, sanayi atıksu/yağmur suyu kanalının ve drenaj kanallarının doğrudan akarsuya karışması engellenmeli, gerekli tedbirlerin alınması konusunda halk bilinçlendirilmelidir.

Anahtar Kelimeler: Fekal indikatör bakteriler, Fekal kirlilik, Kıyısulak sulak alan, Akarsu-sulak alanı, Taşkın yatağı, Su kalitesi

ABSTRACT

Temporal and spatial variations of pelagic microbial water quality in a coastal river-wetland area in a temperate climate zone

The introduction of anthropogenic pollutant loads into wetlands rapidly deteriorates water quality. This study was conducted in the Miliç River, a region with intense agricultural activities and coastal wetland characteristics. The Miliç wetland (fluvial wetland) is a receiving environment where the Terme Plain's drainage waters and the scattered settlements' waters are collected before they are poured into the Black Sea. In the study, monthly surface water samples were taken from four different sampling points of the Miliç River in the temperate climate zone, and total coliform, *Escherichia coli*, and *Clostridium perfringens* contamination from fecal indicators were investigated. Microbiological analyses were performed using standard methods with membrane filtration. The average colony count of the water samples at different stations in the Miliç River was determined as 2022 CFU/100 mL, 455 CFU/100 mL, and 34 CFU/100 mL for total coliform, *E. coli*, and *C. perfringens*, respectively. The highest fecal pollution was recorded during the rainy seasons (winter>autumn>spring>summer). In the correlation between stations and seasons, the highest correlation was determined for *E. coli* in winter ($r=0.985$, $p<0.05$) and for *C. perfringens* in autumn ($r=0.958$, $p<0.05$). Analysis results show that there is fecal pollution in Miliç coastal wetlands. According to the bacteriological parameters in the Surface Water Quality Regulation, wetland water ranks II in total coliform bacteria count. The class is of water quality (slightly contaminated water). Regarding this parameter, the ecological status of the river-wetland is in the "good" water class. In terms of microbiological water quality, the Miliç River has values that are not very polluted but under the pressure of pollution. In order not to increase the level of fecal contamination, direct mixing of domestic waste/ wastewater, animal manures, industrial wastewater/rainwater channels, and drainage channels from settlements and agricultural areas in the wetland basin should be prevented, and the public should be made aware of the necessary precautions to be taken.

Keywords: Fecal indicator bacteria, Fecal pollution, Coastal wetland, Stream-wetland, Floodplain, Water quality

Giriş

Dünyanın karşı karşıya olduğu en büyük çevre sorunlarından ilki iklim değişikliği, ikincisi ise su kirliliğidir. Küresel ısınma ve iklim değişikliği özellikle iç sularda, başta sığ göller ve sulak alanlarda olmak üzere ciddi baskı yaratmaktadır (Aydın ve ark., 2021). Dünya genelinde birçok su havzası, kirlilik nedeniyle kullanılamaz hale gelmiştir. Evsel ve endüstriyel atıklar, kimyasallar ve zirai faaliyetler suların hızla kirlenmesine yol açarken, antropojenik faaliyetler doğal kaynakların hızla tükenmesine neden olmaktadır. Bunun sonucunda ise biyolojik çeşitlilik kaybı yaşanmaktadır.

Doğanın en önemli kaynaklarından olan akarsular birçok açıdan önemlidir. İçme suyu, tarım, sanayi ve evsel kullanımda, sucul flora ve faunanın hayatta kalmasında, dolayısıyla doğal ekosistemlerin sürdürülebilir olması için akarsular hayati öneme sahiptir (Taş ve ark., 2019; Yüksel ve ark., 2021). Büyük akarsular hidroelektrik santralleri aracılığıyla elektrik enerjisi üretmek için kullanılırken, özellikle taşımacılıkta kullanılan nehirler, ülke ekonomileri için oldukça önemlidir. Büyük akarsu sistemlerinin çok önemli bir parçası olan taşkın yatakları ise ırmak ve karasal ekosistemler arasındaki su kütleleri ve madde alışverişinde önemli rol oynarlar (Kiedrzyńska ve ark., 2008a, b). Taşkın yataklarının doğal bileşenlerinden biyotik (makrofitler) ve abiyotik (sediment) faktörler yerüstü ve yeraltı su kalitesini etkiler (Ustaoğlu ve ark., 2022). Bu nedenle taşkın yatağı, akarsu sistemlerinin işlevini ve bütünlüğünü sürdürmek için çok önemli ekosistemlerdir. Dolayısıyla ırmak taşkın yataklarının özellikle alt havzalardaki fonksiyonu oldukça büyüktür. Taşkın yatağı, sel sularının yavaşlamasına ve dağılmasına yardımcı olur. Böylece sel bölgesindeki hasarı en aza indirgeyerek, çevredeki binalar, araziler ve diğer altyapıların zarar görmesini engeller, insanların ve mallarının güvende kalmasını sağlar. Ayrıca, doğal yaşam alanlarının korunmasına da yardımcı olur. Karadeniz kıyısı boyunca yaklaşık 10 km uzunluğundaki kıyusal akarsu Miliç Irmağı bir taşkın yatağı rolünü üstlenerek hem sahil hattı üzerindeki yerleşim bölgelerinin hem de tarım alanlarının sel sularından zarar görmesini engellemektedir.

Son yıllarda yerkürenin ve ülkemizin bazı yerlerinde, örneğin Akdeniz iklim bölgesinde ve kapalı havzalarda, şiddetli kuraklıklar yaşanırken, Karadeniz Bölgesi'nin kıyı kesimlerini etkileyen Karadeniz ikliminin görüldüğü bölgelerde zaman zaman sel felaketleri yaşanmaktadır. İklim değişikliğinin hidrolojik döngüyü değiştirmesi sonucu yaşanan doğal felaketlerin, örneğin akarsuların, sığ göllerin ve sulak alanların kuruması, kuraklıklar, seller, yangınlar, fırtınalar gibi aşırı hava olaylarının sıklığı ve yoğunluğu günümüzde oldukça artmıştır. Bununla birlikte birçok havzada ve taşkın

yataklarında büyük çevresel sorunlar yaşanmakta ve su kalitesi bundan olumsuz etkilenmektedir. Klimatik faktörlerin yanı sıra nüfus artışı, tarım, orman ve mera alanlarının tahrip edilmesi, elverişsiz tarım yöntemleriyle toprakların yoğun bir şekilde kullanılması, akarsu yataklarının çevresindeki yapılaşmalar gibi antropojenik faktörler küresel ölçekte sucul ekosistemlerin bozulmasını hızlandırmakta, dolayısıyla ekosistemin işleyişi ve fonksiyonları azalmaktadır.

Çok sayıda çalışma, su kütlelerinde fekal patojenlerin varlığı ile su kaynaklı bir hastalığa yakalanma riskinin artması arasındaki ilişkiyi vurgulamıştır (Kolören ve ark., 2011 a,b; Ford ve Hamner, 2018; Hulyar ve Altuğ, 2020; Kalkan ve Altuğ, 2020; Şener ve ark., 2020; Taş ve ark., 2023). Su kaynaklı hastalığa neden olan ajanlar bakteriyel, viral, protozoal veya mantar olabilir (Leifels ve ark., 2022). Akarsularda fekal kirlilik, insan veya hayvan atıklarının sulara karışması sonucu oluşan bir çevresel sorundur. Genellikle insan ve hayvan dışkılarından kaynaklanan ve bu atıkların içinde bulunan bakteri, virüs ve diğer patojenlerin suya karışmasıyla su kirliliği meydana gelir. Bu kirlilik türü, özellikle kanalizasyon sistemlerindeki arıtma işlemlerinin yeterli olmadığı veya hiç olmadığı bölgelerde sık görülür. Dünyanın en yaygın afetlerinden olan ve sıklığı son yıllarda artış gösterme eğilimi gösteren seller ve taşkınların insan ve hayvan ölümleri, habitat kayıpları gibi ciddi sonuçları olurken, olumsuz sağlık etkilerine de yol açmaktadır. Sel suları ile dağılan atıklar kirliliğe sebep olmakta ve enfeksiyon riskini de artırmaktadır. Sellerden sonra vektör üreme alanları da genişlemektedir. Dolayısıyla aşağı havza akarsularında fekal kirlilik, insan sağlığını tehdit eden hastalıkların yayılmasına neden olabilir. Su kirliliği ile mücadele etmek ve suların temiz kalmasını sağlamak için atıkların doğru şekilde yönetilmesi, kanalizasyon sistemlerinin etkili bir şekilde işletilmesi ve su kaynaklarının korunması önemlidir.

Türkiye'nin Orta Karadeniz Bölümü (Samsun), Yeşilirmak ve Kızılırmak nehirlerinin oluşturduğu deltalar, bu deltalarındaki Çarşamba ve Bafra ovaları ile oldukça üretken bir ekosistemdir. Aynı zamanda, deltalar tatlı su, acı su ve tuzlu su özelliği taşıyan lentik ve lotik sistemler, sulak alanlar, subasar ormanlar gibi zengin ekosistem çeşitliliğine de sahiptir. Ancak bu akarsu havzaları, özellikle havzalar ve denizler arasında doğal bir arayüz olan Miliç Irmağı gibi akarsular hem doğal kaynaklı maddeleri hem de yüksek nüfus yoğunluğu nedeniyle insan kaynaklı kirlenici yükleri taşıyan bir ortam olduğu için antropojenik faaliyetlerden etkilenmektedir (Taş ve Kolören, 2017; Ustaoğlu ve ark., 2020; Taş ve ark., 2021; Ustaoğlu ve ark., 2021).

Samsun ili Terme ilçesindeki Miliç Irmağı-akarsu sulak alanı sucül flora ve fauna bakımından oldukça zengindir (Taş ve Topaldemir, 2021) ancak, tarımsal faaliyetlerin oldukça yoğun olduğu üst havzadan sulak alana taşınan tarımsal, evsel ve endüstriyel atık sular için de alıcı bir ortamdır (Topaldemir ve ark., 2023). Çalışma alanı içinde yer alan sucül ekosistemlerden Terme Çayı'nda su kalitesi durumu ve kirlilik kaynakları hakkında kapsamlı bir araştırma yapılmış ve genel su kalitesinin iyi olduğunu bildirilmiştir. Ancak, ağır metal içeriği bakımından yapılan sağlık risk değerlendirmesinde, çocukların sağlığının yetişkinlerden daha yüksek risk altında olduğu belirtilmiştir (Ustaoğlu ve ark., 2021). Terme Çayı'nda iletkenlik (EC) ve toplam çözünmüş katı madde konsantrasyonu (TDS) değerlerinin de Orta Karadeniz'deki akarsulardan yüksek olduğu gözlenmiştir (Taş ve Kolören, 2017; Ustaoğlu ve ark., 2021). Terme Çayı sediment kalitesinin ağır metal içeriği bakımından incelendiği çalışmada ise Cd ve Cu elementlerinin özellikle tarımsal faaliyetlerden sisteme taşındığı, ancak insan sağlığı için henüz yüksek risk içermediği, diğer metallerin de doğal kökenli olduğu bildirilmiştir (Ustaoğlu ve ark., 2022). Aynı akarsuyun mikrobiyolojik su kalitesinin incelendiği çalışmada, Terme Çayı'nın çok kirlili olmayan, II. Sınıf, yani az kirlenmiş su özelliği taşıdığı belirlenmiştir. Fakat mansap bölgesine doğru artan kirlilik baskısı gözlenmiş, özellikle evsel ve tarımsal faaliyetlerden kaynaklı, akarsuda fekal indikatör bakteri kontaminasyonu tespit edilmiştir (Taş ve ark., 2023). Terme ve Kocaman Çayı havzasında yapılan başka bir çalışmada, suda çeşitli protozoonların (*Balantidium* spp., *Blastocystis* spp., *Chilomastix* spp., *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp., *Giardia* spp., *Microsporidia* sporu, *Strongyloides* spp., kancalı kurt yumurtaları) bulunduğu bildirilmiştir. Bu mikroorganizmaların, alandaki yoğun tarımsal ve hayvancılık faaliyetlerinden kaynaklı suya karıştığı ifade edilmiştir (Karaman ve ark., 2017a). Aynı havza içindeki Miliç Irmağı'nda daha önce yapılan çalışmalarda; sucül makrofit çeşitliliği ve mevcut türlerin değerlendirilebilir potansiyeli incelenmiş, ancak akarsu sulak alanında özellikle suda serbest yüzen su eğreltilerinden *Azolla* ve *Salvinia* gibi istilacı su bitkilerinin zaman aşırı çoğalmalar yaptığı bildirilmiştir (Taş ve Topaldemir, 2021). Miliç Irmağı sediment metal içeriğinin ekotoksikolojik açıdan incelendiği çalışmada ise incelenen metallerin düşük ve az konsantrasyonlarda olduğu, dolayısıyla çocuklarda ve yetişkinlerde önemli bir sağlık riski oluşturmayacağı belirlenmiştir (Topaldemir ve ark., 2023).

Ulaşılan kaynak bilgilere göre, şu ana kadar Miliç Irmağı'nda mikrobiyolojik su kalitesinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı, kıyısal akarsu Miliç

Irmağı yüzey suyunda fekal indikatör bakterilerden (FIB) toplam koliform, *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens*'in varlığını tespit ederek, akarsuyun mikrobiyolojik su kalitesini alansal ve zamansal olarak değerlendirmektir. Araştırmada, mikrobiyal kirleticilerin kaynağı, su kalitesindeki önemli değişimlerin sebebi, büyüklüğü ve etkileri ortaya konularak, yağışlı ve kurak sezonlardaki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

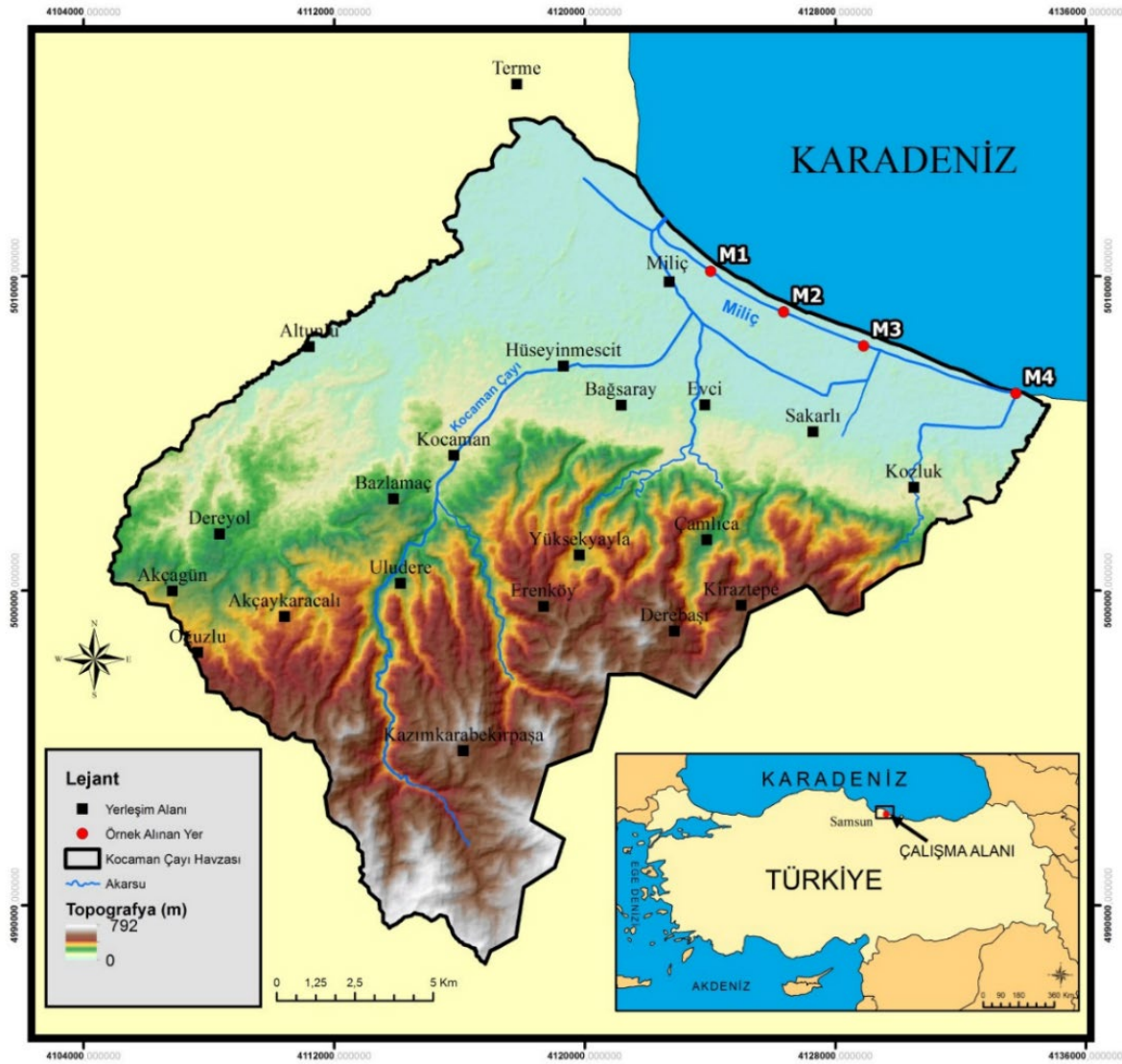
Araştırma Alanı

Miliç Irmağı-akarsu sulak alanı/taşkın yatağı; Karadeniz kıyısı ile Samsun-Ordu karayoluna batıdan doğuya doğru paralel olarak uzanan, 10 km uzunluğundaki bir akarsudur (Şekil 1). Kıyısal bir akarsu-sulak alanı özelliğine sahip olan Miliç Irmağı, Yeşilirmak Nehri Havzası'ndaki Kocaman Çayı alt havzasında bulunur. Yeşilirmak Deltası'nın ve Çarşamba Ovası'nın doğusunda bulunan Miliç, Terme Ovası'nın drenaj suları, çeşitli kanal ve derelerle beslenmektedir.

Karadeniz iklimi görülen, her mevsim yağışlı ve ılıman geçen Orta Karadeniz kıyısındaki Terme ilçesinde, aylık ortalama toplam yağış 59.15 ila 147.23 mm aralığında olup, ortalama aylık toplam yağış 100.7 mm'dir. Terme'nin ortalama yıllık yağış miktarı Türkiye'nin tüm yağış ortalamasından (623 mm) nispeten daha fazladır (MGM, 2020). Çalışma bölgesinde en yüksek yağış Kasım ayında, en az yağış Mayıs ayında olmaktadır. Terme-Kozluk Meteoroloji İstasyonu'nun 2014–2019 yıllarına ait iklim verilerine göre, aylık sıcaklık değeri 6.6°C (Ocak) ila 24.0°C (Ağustos) aralığında olup, ortalama sıcaklık 14.7°C'dir. Ortalama en düşük sıcaklık Şubat (6.8°C), en yüksek sıcaklık ise Ağustos ayındadır (23.2°C) (MGM, 2020; Taş ve ark., 2023).

Örnekleme

Nisan 2019 ile Mart 2020 arasında dört farklı istasyondan (M1: 41°10' 30.72"N-37°2' 56.87"E; M2: 41°10'10.69"N-37°3'32.47"E; M3: 41°9' 32.94"N-37°5'22.38"E ve M4: 41°8'58.37"N-37°8' 3.48"E) aylık olarak örnekleme yapıldı (Şekil 1). Steril cam numune şişeleri ırmak suyu ile birkaç defa çalkalandıktan sonra yüzeysel sudan (10–30 cm) anlık su numuneleri alındı. Su örnekleri, sıkıca kapatılarak ışık veya sıcaklıktan korunması için numune taşıma çantasına yerleştirildi. Aynı gün içinde su numuneleri Ordu Halk Sağlığı Laboratuvarı'na getirilerek 24 saat içinde mikrobiyal analizler yapıldı.



Şekil 1. Çalışma alanının konumu ve örnekleme istasyonları

Figure 1. Location of the study area and sampling stations

Analytik Metotlar

Bu çalışmada, kıyusal akarsu Miliç Irmağı yüzey suyunda toplam koliform (*TC*), *E. coli* (*EC*) ve *C. perfringens* (*CP*) varlığı araştırıldı. Tüm analizler membran filtrasyon yöntemi ile standart metotlar kullanılarak yapıldı. *TC* ve *EC* tespiti ve sayımı için standart çalışma prosedürü TS EN ISO 9308-1 (2014); *CP* (sporlular dahil) tespiti ve sayımı için standart çalışma prosedürü TS EN ISO 6222 (1999) kullanıldı. Mikrobiyal değerlendirme KOB/100 mL (100 mililitredeki koloni sayısı) olarak ifade edildi.

İstatistiksel Analizler

Miliç Irmağı istasyonlarında tespit edilen mikrobiyal parametrelerin tanımlayıcı istatistiksel analizleri (ortalama, standart sapma, minimum ve maksimum değerleri) ile istasyonlar arasında istatistiksel farklılıkların olup olmadığının tespiti için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Değişkenler arasındaki korelasyon, Pearson'un korelasyon katsayısı (r) ile belirlendi. Mikrobiyal parametrelerin değerlerine göre, ayların benzerliklerini belirlemek ve sayısını indirmek için temel bileşenler analizi (faktör analizi) ile kümeleme analizi uygulandı. Bu istatistiksel analizler SPSS 22.0 paket yazılımı ile yapıldı.

Ayrıca, FIB analiz sonuçlarından alansal ve zamansal değişimleri iyi analiz edebilmek ve görselleştirmek için Origin Pro Lab (Origin 8.5, 2021) yazılımı kullanılarak hot plot grafikleri hazırlandı. Bir ısı haritası şeklinde oluşturulan grafikte farklı renklerin tonları kullanılarak her bir veri noktalarının yoğunluğu gösterildi. Kırmızı renk tonunun artması bakteri yoğunluğunun fazla olduğunu ifade etmektedir (Taş ve ark., 2023).

Bulgular ve Tartışma

Miliç Irmağı'nda dört farklı istasyonda aylık olarak yapılan *TC*, *EC* ve *CP* analizlerinin sonuçları Tablo 1'de, mikrobiyal parametrelerin tanımlayıcı istatistiksel analizleri Tablo 2'de verilmiştir. Tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılan Tukey testinde istasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0.05$). Ancak mevsimsel olarak *EC* kış verileri, diğer mevsimlerden farklıdır ($p<0.05$).

Ayrıca *CP* kış verileri ile yaz ve sonbahar mevsimleri arasında anlamlı farklılıklar bulunmuştur ($p<0.05$) (Tablo 2). FIB sayısı yıllık ortalama olarak 644,7–1071,7 KOB/100 mL aralığında değişmiş olup, dağılım $TC>EC>CP$ şeklinde tespit edilmiştir. İstasyonlar arasındaki FIB yoğunluğu $M4>M1>M3>M2$; mevsimsel olarak sonbahar>kış>ilkbahar>yaz şeklindedir. İstasyonlar ve mevsimler arasında yapılan korelasyonda en yüksek ilişki *EC* için kış ($r=0.985$, $p<0.05$), *CP* için sonbaharda ($r=0.958$, $p<0.05$) belirlenmiştir. Miliç Irmağı'nda yapılan çalışmada her istasyonda, her ay FIB'lerin kaydedilmiş olması, bölgedeki çeşitli noktasal ve yayılı kaynaklardan dolayı, akarsuyun kontamine olduğunu ve halk sağlığı açısından risk oluşturabileceğini göstermektedir. *TC*, *EC* ve *CP* türlerinin mevsimsel yoğunlukları farklılık göstermekle birlikte, istasyonlar bazında yapılan değerlendirmede en fazla kontaminasyonun 4. istasyonda olduğu tespit edilmiştir. En az kontaminasyon ise 1. istasyondadır.

Tablo 1. Fekal indikatör bakterilerin (KOB/100 mL) istasyonlara göre aylık dağılımı

Table 1. Monthly distribution of fecal indicator bacteria (CFU/100 mL) by stations

FIB	İstasyon	Mart	Nisan	Mayıs	Haziran	Temmuz	Ağustos	Eylül	Ekim	Kasım	Aralık	Ocak	Şubat
<i>TC</i>	1	1730	310	340	1442	772	806	15680	507	1430	360	567	3850
	2	3045	425	568	681	815	762	2322	372	1153	554	696	6840
	3	1504	158	219	798	748	964	2612	381	385	911	4377	7720
	4	4108	214	256	891	915	903	11408	553	1365	1409	4108	4140
<i>EC</i>	1	190	20	24	968	32	69	680	90	550	55	210	1400
	2	145	55	68	90	60	93	122	42	355	85	385	3200
	3	129	19	8	147	68	75	102	75	25	519	3292	680
	4	171	8	6	132	336	355	404	105	410	889	2994	1900
<i>CP</i>	1	56	22	26	6	26	15	8	4	10	30	49	28
	2	63	18	10	2	18	35	14	2	8	20	51	39
	3	51	35	40	2	20	9	18	1	14	22	192	62
	4	49	117	16	6	22	18	10	1	38	51	205	57

Tablo 2. Bakteriyolojik parametrelerin mekansal ve zamansal tanımlayıcı istatistik analizleri**Table 2.** Spatial and temporal descriptive statistical analyzes of bacteriological parameters

FİB	İstasyon	N	Ortalama	Standart sapma	Minimum	Maksimum
TC	1	12	2316	4323	310	15680
	2	12	1519	1864	372	6840
	3	12	1731	2240	158	7720
	4	12	2523	3182	214	11408
	Toplam	48	2022	2984	158	15680
EC	1	12	357	450	20	1400
	2	12	392	892	42	3200
	3	12	428	926	8	3292
	4	12	643	906	6	2994
	Toplam	48	455	799	6	3292
CP	1	12	23	16	4	56
	2	12	23	20	2	63
	3	12	39	52	1	192
	4	12	49	58	1	205
	Toplam	48	34	41	1	205
TC	İlkbahar	12	1073	1296	158	4108
	Yaz	12	875	196	681	1442
	Sonbahar	12	3181	4982	372	15680
	Kış	12	2961	2580	360	7720
	Toplam	48	2022	2984	158	15680
EC	İlkbahar	12	70 ^a	69	6	190
	Yaz	12	202 ^a	263	32	968
	Sonbahar	12	247 ^a	222	25	680
	Kış	12	1301 ^b	1244	55	3292
	Toplam	48	455	799	6	3292
CP	İlkbahar	12	42 ^{ab}	29	10	117
	Yaz	12	15 ^a	10	2	35
	Sonbahar	12	11 ^a	10	1	38
	Kış	12	67 ^b	63	20	205
	Toplam	48	34	41	1	205

Dikey sütundaki harfler istatistiksel farklılıkları gösterir ($p < 0.05$)

Maksimum TC bakteri sayısı sonbaharda 1. istasyonda (5872 KOB/100 mL), maksimum EC (1928 KOB/100 mL) ve maksimum CP 4. istasyonda kış mevsiminde (104 KOB/100 mL) kaydedilmiştir (Şekil 2). Miliç Irmağı'ndaki FIB türlerinin yoğunluklarına göre oluşturulan hot plot grafikleri Şekil 4-6'da görülmektedir. Miliç Irmağı ile aynı havzada yer alan Terme Çayı'nın FIB yoğunluğu çalışma alanımızdaki bulgularımızla benzer olup, $TC > EC > CP$ şeklinde olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada, indikatör bakterilerin mevsimsel değişimlerine bakıldığında, TC bakteriler sonbahar mevsiminde, EC ve CP kış mevsiminde artış göstermiştir (Taş ve ark., 2023). Ege Bölgesi'nde yüksek nüfus yoğunluğu, yoğun tarımsal ve/veya endüstriyel faaliyetler nedeniyle antropojenik olarak etkilenen alanlardan geçen Meriç,

Bakırçay, Gediz, Küçük Menderes ve Büyük Menderes nehir sularının mikrobiyolojik kalitesi fekal kontaminasyon göstergelerini kullanılarak değerlendirilmiş ve kış mevsiminde fekal koliform sayılarının fazla olduğu bildirilmiştir. Çalışmada sularını Ege Denizi'ne taşıyan akarsularda dışkı kirliliği olduğu ifade edilmiştir (Kacar, 2011). Ege Denizi'nde rekreasyonel alanların karasal kirlilik kaynakları nedeniyle bakteriyolojik kontaminasyona uğradığı, bu durumun halk sağlığı, ekoloji ve çevre açısından istenmeyen durumlar oluşturduğu belirtilmiştir (Çiftçi Türetken ve Altuğ, 2016; Bulbul ve Camur-Elipek, 2017; Altınoluk Mimiroğlu ve ark., 2020). Benzer durum Marmara Denizi'ne (Hulyar ve Altuğ, 2020) ve Akdeniz'e bağlanan akarsular (Bıçkıcı ve Eken, 2021) için de geçerlidir. Terme Çayı ve Miliç Irmağı

gibi sularını Karadeniz'e taşıyan Karadeniz Bölgesi'ndeki akarsuların da fekal indikatör bakteriler ve parazitler bakımından kontamine olduğu yapılan çalışmalarda vurgulanmıştır (Kolören ve Kaya, 2012; Karaman ve ark., 2017a,b; Kolören ve ark., 2017; Akkan ve ark., 2019; Verep ve ark., 2019; Gündoğdu ve Çarlı, 2020 a,b; Kalkan ve Altuğ, 2020, Şener ve ark., 2020; Taş ve ark., 2023).

TC bakterisi, bakteriyel kirlilik seviyelerini tespit etmek için bir gösterge olarak kullanılır (Altuğ ve ark., 2017). *TC* bakterilerin akarsuda diğerlerinden daha yüksek sayılarda olması, akarsuyun yıl boyunca insan ve hayvan dışkısı ile temas halinde olduğunun bir göstergesidir. Bu durum su kaynağının kontamine olduğunu gösterir ve sağlık riskleri oluşturabilir. Akarsudaki *TC* konsantrasyonunun sonbahar aylarında diğer mevsimlere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, çalışma alanında Ağustos ayında meydana gelen sel felaketi nedeniyle, yukarı havzadan aşağı havzaya suyla taşınan organik ve inorganik tüm kirleticilerin Miliç Irmağı kıyasal sulak alanında toplanması şeklinde açıklanabilir. Tablo 1'de görüldüğü gibi, en yüksek *TC* değeri Eylül ayında ve 1. istasyonda tespit edilmiştir. Bu istasyon Kocaman Çayı ana kolunun Miliç'e bağlandığı bölgedir (Şekil 1). Dolayısıyla bu istasyonda yüksek bakteri kontaminasyonu kaydedilmiştir, fakat aynı zamanda burada çöktürme ve filtrasyonun da meydana gelmesi olasıdır. Çünkü, yoğun makrofit toplulukları içeren bu istasyondan sonra 2. ve 3. istasyonlarda *TC* değeri daha azdır. Fakat denize bağlantı bölgesindeki 4. istasyonda yukarı havzadan su taşıyan ve Miliç Irmağı ile birleşen Kozluk Deresi'nden kaynaklı olarak *TC* değerinde artış görülmüştür. Bu sonuçlar, yağışın ve sellerin aşağı havzadaki akarsu, göl, sulak alan, deniz gibi su kütlelerinde patojen mikroorganizmaların ciddi bir kontaminasyon yapabileceğini göstermektedir.

Araştırma periyodunda, *TC* sayısının mevsimsel ortalaması, *EC* ve *CP* gibi kış mevsiminde de yüksek değerlerde gözlenmiştir (Şekil 2). *TC* değerinin tüm mevsimlerde 4. istasyonda maksimum olduğu bulunmuştur ($M4 > M1 > M3 > M2$). Bu sonuçlar organik yükü oldukça fazla olan Kozluk Deresi'nin geçtiği köy ve tarım alanlarından topladığı fekal kökenli kirlilik yükünden kaynaklı olabilir. Koliform bakteri konsantrasyonlarının artmasının nedenleri; iklimik faktörler (mevsimsel sıcaklık değişim ve mevsimsel yağış miktarının azalması), mikroorganizmalar için uygun üreme ortamının oluşumu (suda toplam organik yükün fazlalığı) ve kanalizasyonlardaki atık yükünün artışı olabilir. Sonuç olarak, *TC* verileri, istasyonlardaki su kaynağının mikrobiyolojik kalitesini değerlendirmede önemli bir göstergedir. Yüksek konsantrasyonlar, su kaynaklarının sağlık riskleri oluşturabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, su kaynaklarının

düzenli olarak test edilmesi ve *TC* gibi göstergelerin izlenmesi, halk sağlığı açısından oldukça önemlidir.

İncelenen istasyonların bakteriyolojik verileri Yerüstü Su Kalitesi Yönetimi Yönetmeliği'ne göre (YSKY, 2012) değerlendirildiğinde; *TC* ortalama verilerine göre Miliç Irmağı'nın alansal ve zamansal olarak su kalitesi Sınıf II özelliği (az kirlenmiş su) taşımaktadır. Dört istasyonda yıllık ortalama *TC* sayısı >1000 KOB/100 mL'dir (Şekil 2). Mevsimsel ortalama *TC* değerleri sadece yaz mevsimde <1000 KOB/100 mL iken (875 KOB/100 mL), özellikle sonbahar ve kış mevsimlerinde 3000 KOB/100 mL civarındaki koloni sayıları istasyonların bakteriyel kontaminasyon konusunda uzun vadeli izleme çalışmalarına ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. *TC* parametresi bakımından akarsu-sulak alanın ekolojik durumu "iyi" su sınıfında yer alsa da incelenen istasyonların ötrofikasyona yatkın olduğu gözlenmiştir. Doğu Anadolu Bölgesi'ndeki tatlı su kaynaklarında indikatör bakteri düzeylerinin incelendiği çalışmada da Sınıf I ve Sınıf II su kalitesine sahip sulak sistemlerin çalışma alanımızdaki gibi ötrofikasyon riski taşıdığı bildirilmiştir (Altuğ ve ark., 2017).

Tatlı su ekosistemleri, özellikle sulak alanlar çevrenin korunması ve doğal kaynakların sürdürülebilir kullanımı için kritik ortamlardır. Dolayısıyla bu ekosistemlerin izlenmesi ve kontrol edilmesi elzemdir. Su ortamındaki bakteri yükünü anlamak için klasik bir yaklaşım olarak koliform bakteriler ve *EC* gibi indikatör bakteriler incelenir. Fekal kirliliğin bir göstergesi olarak kullanılan *EC* bakterisinin yüksek konsantrasyonları insan sağlığı için risk oluşturabilir. *EC* gibi, kültürlenebilir dışkı indikatör bakterileri (FIB), sıcakkanlı hayvanlardan gelen dışkı materyalinin varlığının bir göstergesidir ve su kalitesinin izlenmesi için mikrobiyal bir gösterge olarak kullanılır (USEPA, 2012). Dolayısıyla, *EC*'nin dışkı kontaminasyonunun ve sudaki patojenik mikropların olası varlığının en iyi göstergesi olduğu düşünülmektedir (Odonkor ve Ampofo, 2013). İnsan sağlığını tehdit eden patojen mikroorganizmaların en önemlilerinden olan *EC* ve koliform bakteriler gibi bakteri türleri, sıcakkanlı hayvanların bağırsak yolunda kolonileşen doğal mikrofloradır ve tatlı su ve deniz sularındaki varlığı, bakteriyel patojenlerin varlığına karşılık gelir (Meals ve ark., 2013). *EC*'nin tatlı su gölleri ve akarsular, topraklar ve çökelti gibi doğal ortamlarda hayatta kalabilmesine, büyüyebilmesine ve popülasyonlar oluşturabilmesine dair kanıtlar vardır (Byappanahalli ve ark., 2012; Liang ve ark., 2015). Miliç Irmağı'nda *EC* verileri incelendiğinde, istasyonlar ve mevsimler arasında farklılıklar olduğu görülmüştür (Tablo 1). En yüksek *EC* değeri 4. istasyonda tespit edilmiştir ($M4 > M3 > M2 > M1$). *EC* seviyesi mevsimsel ortalama olarak (1301 KOB/100 mL), kış mevsiminde diğer mevsimlere göre daha yüksektir (Şekil 3). Miliç Irmağı'ndaki *EC* verileri sistemin tarım alanlarından, yerleşim yerlerinden

gelen mikroorganizmalar tarafından kontamine olduğunu, dolayısıyla suyun doğrudan ve/veya dolaylı insan tüketimi/kullanımı için uygun olmadığını göstermiştir. Aynı zamanda, sonuçlar su kaynağındaki kirliliğin, özellikle de fekal kirliliğin varlığına işaret etmektedir. Aynı havza içindeki Terme Çayı'nda da *EC* tespit edilmiştir (Taş ve ark., 2023). *EC*, yüzmeye ilişkili gastroenteritin habercisi olduğundan, günümüzde rekreasyonel sular için tercih edilen bakteriyel göstergelerdir. Suda *EC*'nin varlığı neredeyse her zaman fekal kontaminasyonu ve dolayısıyla patojenlerin mevcut olma riskini gösterir (Meals ve ark., 2013). *EC*, tatlı suyun izlenmesi için tavsiye edilen indikatör bakterilerdendir (USEPA, 2004) ve 2012'de yayımlanan rekreasyonel su kalitesi kriterlerinde 100 mL'de ortalama 126 KOB aşılması durumunda suyla temas önerilmez (USEPA, 2012).

CP, işlenmiş/işlenmemiş kanalizasyon veya diğer atıklarla suyun kontamine olduğunu gösteren başka bir bakteridir. Bu bakteri tropikal ve subtropikal sularda son zamanlardaki dışkı kontaminasyonunun alternatif bir göstergesi olarak kullanılır (Meals ve ark., 2013). Miliç Irmağı'nın *CP* bakımından da kontamine olduğu, fakat diğer FIB türlerine göre daha az sayılarda olduğu görülmüştür (Tablo 1). Dört farklı istasyonda mevsimsel ortalama olarak, en yüksek *CP* değeri kış mevsiminde ve 4. istasyonda tespit edilmiştir (M4>M3>M2>M1; kış>ilkbahar>yaz>sonbahar). Ocak ayında kaydedilen en yüksek değerler 4. ve 3. istasyonlarda sırasıyla 205 ve 192 KOB/100 mL'dir. *CP* kış ortalama değeri ise 78 KOB/100 mL'dir (Şekil 4). *CP*, insanların ve hayvanların gastrointestinal sistemi ile ilişkisine ve kanalizasyondaki sporlarının varlığına dayanan geniş bir FIB geçişine sahiptir (Davies ve ark., 1995; Medema ve ark., 1997; Cox ve ark., 2005). *CP*, tortuda biriktikten sonra zorlu

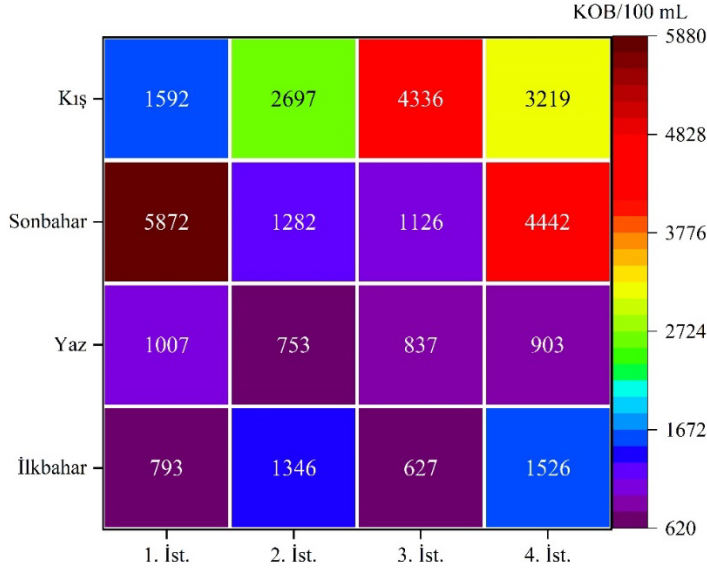
ortamlarda hayatta kalmaya izin veren spor oluşturma yeteneğine sahiptir (Davies ve ark., 1995). Hayatta kalması, boyutu ve parçacıklarla ilişkisi nedeniyle, bu organizmanın su sistemlerinde izlenmesinin iyi bir gösterge olduğu düşünülmektedir (Medema ve ark., 1997). Sediment, dışkı kirliliğinin bir deposu olarak kabul edilir (Mueller-Spitz ve ark., 2010). Deniz ve acısuların sedimentlerinde *CP* varlığını sürdürebilirken, diğer indikatör bakterilerin seviyeleri günler veya haftalar gibi kısa zaman dilimlerinde azalabilir (Ashbolt ve ark., 1993; Davies ve ark., 1995). *CP* sporları, alıcı ortama giriş yaptığı bölgede uzak yerlerde de tespit edilebilir, bu da uzak veya eski fekal kirliliğin bir göstergesidir (Savichtcheva ve Okabe, 2006; Wang ve Deng, 2019). *CP* sporları kirli sularda, özellikle tatlı sularda diğer FIB'lere göre daha uzun süre hayatta kalabilir. *CP* sporlarının uzun süreli canlılığı, bu bakterileri uzun vadeli veya biriken dışkı kirliliğinin daha iyi bir göstergesi yapar. Dolayısıyla, diğer FIB'lerle birlikte *CP*'nin de kullanılmasıyla, sucul sistemin mikrobiyal su kalitesi daha iyi tahmin edilebilir (Li ve ark., 2021).

TK, *EC* ve *CP* değerlerinin aylara göre yapılan döndürülmüş temel bileşenler analizi sonucunda öz değeri 1'den büyük 2 faktör saptanmıştır (Şekil 5). Faktör 2 içinde yağışlı geçen kış sezonu (Ocak ve Aralık ayları) verileri yer alırken, özdeğeri 1.62'dir ve toplam varyansın %27'sini açıklamaktadır. Diğer ayların ise özdeğeri 8.79 olan ve toplam varyansın %59.54'ünü oluşturan faktör 1 içinde yer aldığı görülmüştür (Tablo 3). Özdeğerlerin açıkladıkları birikimli varyans miktarı ise toplam varyansların %86.80'idir. Kış aylarında yağışlarla ve yüzey akışlarıyla taşınan fekal orijinli bakteriler, deniz rakımındaki kıyısal akarsu olan Miliç Irmağı'nda suda yüksek değerlerde kaydedilmiştir. Faktör analizi ve kümeleme analizi sonuçları da bunu desteklemiştir (Şekil 6).

Tablo 3. *TK*, *EC* ve *CP* parametrelerinin faktör analizi varyans tablosu

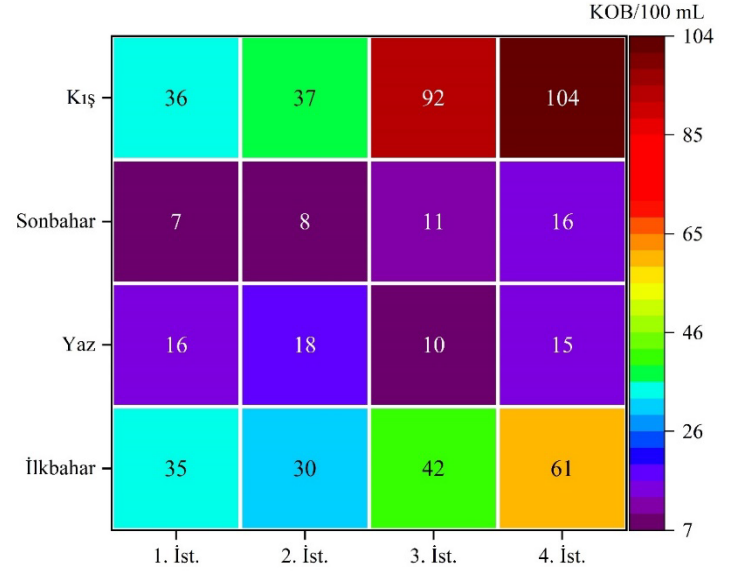
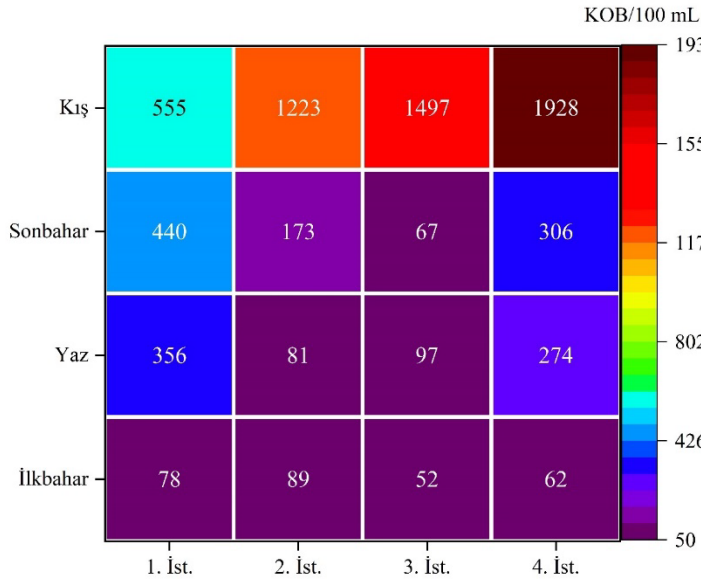
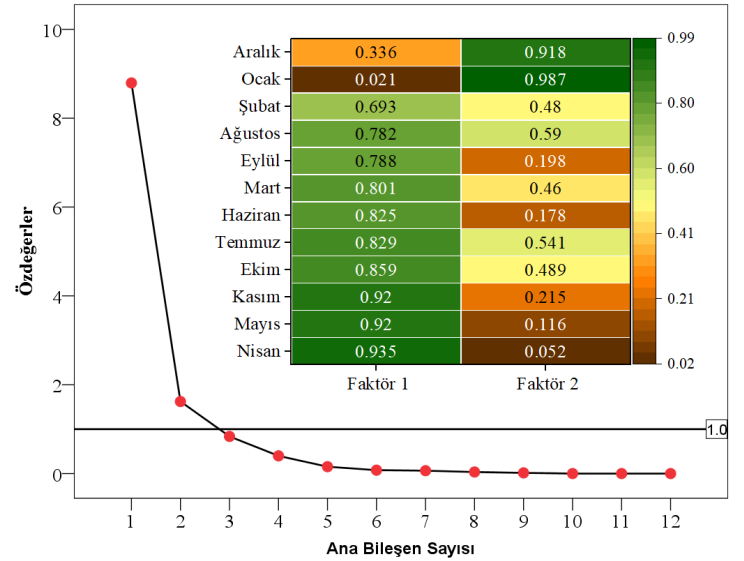
Table 3. Factor analysis variance table of *TK*, *EC* and *CP* parameters

Bileşen	Başlangıç değerler			Yüklerin açıklanabilir kareler toplamı			Döndürülmüş kareli yüklerin toplamı		
	Toplam	Varyans %	Kümülatif %	Toplam	Varyans %	Kümülatif %	Toplam	Varyans %	Kümülatif %
1	8.79	73.28	73.28	8.79	73.28	73.28	7.15	59.54	59.54
2	1.62	13.52	86.80	1.62	13.52	86.80	3.27	27.26	86.80



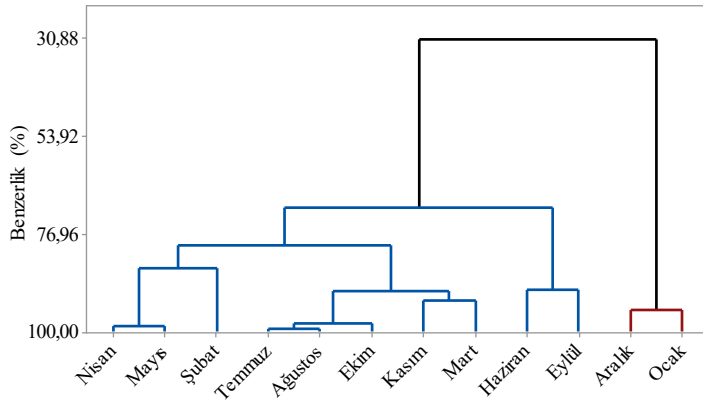
Şekil 2. Toplam koliform hot plot grafiği

Figure 2. Hot plot graph of total coliform

Şekil 4. *C. perfringens* hot plot grafiğiFigure 4. Hot plot graph of *C. perfringens*Şekil 3. *E. coli* hot plot grafiğiFigure 3. Hot plot graph of *E. coli*

Şekil 5. Bakteriyojik parametrelere göre ayların çizgi eğim grafiği ve faktör analizi

Figure 5. Line slope graph of months and factor analysis according to bacteriological parameters



Şekil 6. Bakteriyojik parametrelere göre ayların kümeleme analizi

Figure 6. Cluster analysis of months according to bacteriological parameters

Fekal orijinli bakteriler, su havzalarında suda ve sedimentte biriktiği için, bunların alıcı ortama noktasal ve/veya noktasal olmayan kaynaklarının belirlenmesi, bu etkenlerin öncelikle ortadan kaldırılması, hayvanlar ve insanların temas ettikleri su kaynaklarının su kalitesinin izlenmesi ve kontrolü, özellikle hijyen kontrolünün sağlanması, hastalıkların ve halk sağlığı riskinin azaltılması bakımından önemli olduğu düşünülmektedir. Miliç Irmağı'nda FIB kontaminasyonunun en yüksek olduğu 4. istasyon, akarsuyun Karadeniz'e bağlantılı olduğu bölgedir. Bu istasyon acısu bölgesi olmasının yanı sıra Kozluk Deresi'nin yukarı havzadan evsel ve tarım alanlarından kirlilik yükü taşıdığı düşünülmektedir. Miliç Irmağı'nın *TK*, *EC* ve *CP* bakterileri tarafından kontaminasyonu hem akarsuda hem de kıyısız bölgede, rekreasyon alanı olarak kullanılabilir potansiyele sahip plaj alanlarında halk sağlığı açısından riskler oluşturabilir. Ayrıca, akarsu hattı boyunca balık avlayıp tüketen insanların da fekal bakteri kontaminasyonuna karşı çok dikkatli olması gerekir. Çünkü doğal sulara özellikle insan ve hayvan dışkılarıyla karışan virüsler ve patojen mikroorganizmalar, suya doğrudan temasla veya atıkların karıştığı suların dolaylı yollardan ulaşarak önemli bir sağlık riski sorunu oluşturabilirler. Aynı zamanda, patojen mikroorganizmalarla kirlenmiş sular, çeşitli amaçlarla su kaynağı veya rekreasyonel alan olarak potansiyel kullanımı sınırlar. Rekreasyonel kullanıma açık sular ve içme suyu temininde mikrobiyolojik olmak üzere her türlü kirlenme ile suların kirlenmesi önemli bir sorun oluşturmaktadır (Kolören ve ark., 2011a, b; Taş ve ark., 2023). *E. coli* gibi indikatör bakteriler sadece hafif enfeksiyonlara neden olsa da bunların varlığı insan sağlığı için tehlike arz etmektedir (Islam ve ark., 2017).

Karadeniz Bölgesi'nin her mevsim yağışlı olması nedeniyle, Terme Ovası'nda tarım alanlarında kullanılan hayvan gübrelere, meralarda hayvan otlatma faaliyetleri, yaban hayatı ve yerleşim alanlarından akarsuya karışan kanalizasyon ve foseptik sızıntılar aşağı akış yönünde Miliç Irmağı kıyısız sulak alanında toplanmaktadır. Karadeniz'e karışmadan önce, suda ve sedimentte bu mikroorganizmaların tutulması denizdeki bakteri konsantrasyonunu azaltabilir. Ancak Miliç Irmağı ile Karadeniz kıyısı arasında kalan su oku üzerindeki yerleşim bölgesi hem akarsu hem de deniz için bir bulaş kaynağı olarak değerlendirilmektedir.

Sonuç

Miliç Irmağı kıyısız sulak alanında *TK*, *EC* ve *CP* türleri kullanılarak yapılan araştırmada, akarsuyun patojen mikroorganizmalar tarafından kontamine olduğu tespit edilmiştir. Dört farklı istasyonda her ay yapılan örneklemeler sonucunda bütün numunelerde FIB'lerin tespit edilmesi, Miliç Irmağı'na insan ve hayvan dışkısı kökenli atıkların veya atıksuların karıştığını göstermektedir. Özellikle bölgede tarım faaliyetlerinin yoğun bir şekilde yapılması, topografik yapı ve meteorolojik koşullar gibi iklimik ve edafik faktörlerle birlikte antropojenik faaliyetler, patojen mikroorganizmaların sudaki varlığına etki eden başlıca faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Yüzeysel suyunun ortak bir bileşeni olan *TK*, *EC* ve *CP* patojenik mikroorganizmalar, kanalizasyonla ve yüzeysel akışlarıyla yukarı havzadan aşağı havzadaki kıyısız sulak alana taşınmaktadır. Özellikle her mevsim yağış alan bölgede kış ve sonbahar yağışlarının yoğun olduğu zamanlarda, yüzeysel akışlarla yerleşim ve tarım alanlarından gelen sular deniz seviyesindeki kıyısız Miliç sulak alanında patojenik mikroorganizmaların yoğunluklarında artışlara yol açmaktadır. Bu mikroorganizmaların az sayıda bulunması, eğer su içme suyu olarak değerlendirilmeyecekse insan sağlığı ve hayatı için bir tehdit oluşturmayabilir, ancak çok sayıda bulunması önemli derecede rahatsızlıklara neden olabilir.

Miliç Irmağı deniz seviyesinde kıyısız bir akarsu-sulak alanı özelliğine sahip olduğu için, "hassas su alanı" olarak nitelenebilir. Karadeniz'den bir kıyı kordonu (su oku) ile ayrılan akarsuyun çok fazla akışı yoktur. Daha çok durağan ve suyun bekleme süresinin fazla olduğu bu akarsu-sulak alan sistemi, sürekli olarak yukarı havzadan gelen çeşitli kirlenmeleri toplayan bir alıcı sistem olarak işlev görmektedir. Genel olarak ötrofik bir yapı göstermesi nedeniyle, gerekli önlemler alınmazsa yakın gelecekte doğal özelliğini kaybedebilir. Yaz aylarında ışıklandırmanın ve yüzeysel su sıcaklığının artmasına bağlı olarak, özellikle aşırı yayılımcı sucul bitkilerden olan su eğreltileri *Azolla* ve *Salvinia* zaman zaman su yüzeyini kimi bölgelerde tamamen kaplayarak submers bitkilerin ışık al-

masını engellemektedir. Su altı bitkilerinin ölmeleri neticesinde mevcut sistemdeki çevresel koşullar değişebilir; sedimentte organik madde miktarı artarken, dekompozisyon sırasında oksijen azalır. Bu durum genel olarak daha yüksek mikrobiyal aktiviteye ve patojenik mikroorganizmaların kompozisyonunda değişikliklere neden olabilir.

Çalışma alanında, çeşitli fekal kökenli bakteri kaynaklarının mekânsal ve zamansal olarak farklı dağılımları, muhtemelen havzada farklı noktasal ve/veya yayılı kirlenme kaynaklarına sahip olduğunu göstermektedir. Su havzalarında su kalitesini belirlemeye yönelik araştırmalardan elde edilen veriler, kirlilik izlemeyi takip etmenin yanı sıra kirli su kütlelerinin kalite yönetimine ve iyileştirmelerine uygun hale getirilmesinde rehberlik edebilir.

Yine, su kütlelerinin iklim değişikliği perspektifinde korunması ve ekolojik kaynakların akılcıca yönetilmesi de öncelikli acil konulardır. Son yıllarda FIB yaygınlığı ve dağılımındaki değişiklikler, iklim değişikliği ile ilişkilendirilmektedir. İklimle bağlı eğilimler (örn., yaz aylarında artan sıcaklıkla birlikte, aşırı yağış ve sel olayları, kış yağışları ve artan akış, artan sıcaklık dalgaları ve aşırı sıcakların süresi ve sıklığı gibi), özellikle çevresel olarak her yerde bulunan patojen mikroorganizmaların yüzey akışlarıyla aşağı havzalarda bulunan alıcı ortamlardaki konsantrasyonunu artırmaktadır. Özellikle iklimik faktörlerin (yağış ve sıcaklık) ve arazi kullanımının FIB davranışı üzerinde önemli etkileri olurken, sel nedeniyle erozyon, tortu taşınması ve yüksek patojenik organizma konsantrasyonu su kaynaklı hastalık vakalarının artmasına yol açabilir. Bu da iklim değişikliğinin önemli sağlık sonuçları olabilir.

Miliç Irmağı'nın mikrobiyal su kalitesi ve kıyısız rekreasyon sularının güvenliği, özellikle iklim değişiklikleri bağlamında, halk sağlığı ve sürdürülebilir su yönetimi için oldukça önemli olup güncelliğini korumaktadır. Etkili su kalitesi kontrolü sağlamak için, tehlikeli indikatör türlerin tespiti hem sistemin iyileştirilmesi için çalışmalar yapmaya hem de su kaynaklı patojenlere maruz kalmadan zamanında korunmaya yönelik tedbirler almaya imkân sağlayacaktır. Güvenli su kullanımına erişim tüm insanların en öncelikli haklarından.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

Etik kurul izni: Araştırma niteliği bakımından etik izin gerektirmemektedir.

Finansal destek: Bu araştırma Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından finanse edilmiştir. Proje Numarası: B-1912.

Teşekkür: Ordu Halk Sağlığı Laboratuvarı'na, Biyolog Bülent KAYNAK ve Biyolog Kasım DEMİR'e analizlerdeki destekleri için teşekkür ederiz.

Açıklama: -

Kaynaklar

Akkan, T., Mehel, S., Mutlu, C. (2019). Determining the level of bacteriological pollution level in Yağlıdere Stream, Giresun. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(2), 83–88.

<https://doi.org/10.17216/limnofish.450722>

Altınoluk Mimirolu, P., Çamur Elipek, B., Aydoğdu, H. (2020). The evaluation of ecological status in Tunca (Tundzha) Tiver (Turkish Thrace) based on environmental conditions and bacterial features. *Aquatic Research*, 3(2), 98–109.

<https://doi.org/10.3153/AR20009>

Altuğ, G., Çardak, M., Türetken, P. S. Ç., Şahin, S. K., Kalkan, S. (2017). The levels of bio-indicator bacteria in the fresh water resources of Eastern Anatolia Region of Turkey. *Environmental Pollution and Protection*, 2(3), 117–123.

<https://doi.org/10.22606/epp.2017.23005>

Ashbolt, N.J., Grohmann, G.S., Kueh, C.S.W. (1993). Significance of specific bacterial pathogens in the assessment of polluted receiving waters of Sydney, Australia. *Water Science and Technology*, 27(3–4), 449–452.

<https://doi.org/10.2166/wst.1993.0390>

Aydın, H., Ustaoglu, F., Tepe, Y., Soylu, E.N. (2021). Assessment of water quality of streams in northeast Turkey by water quality index and multiple statistical methods. *Environmental Forensics*, 22(1-2), 270–287.

<https://doi.org/10.1080/15275922.2020.1836074>

Bıçkıcı, E., Eken, M. (2021). Investigation of bacterial pollution in Ceyhan River (Turkey) and the resistance levels of gram (+) and gram (-) bacteria to antibiotics. *Marine and Life Sciences*, 3(1), 7–14.

<https://doi.org/10.51756/marlife.913566>

Bulbul, G., Camur-Elipek, B. (2017). Investigation of the effects of domestic waste on aquatic bacterial distribution in the Meric River (Edirne, Turkey). *Biologija*, 63(3), 256–263.

<https://doi.org/10.6001/biologija.v63i3.3580>

Byappanahalli, M.N., Nevers, M.B., Korajkic, A., Staley, Z.R., Harwood, V.J. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(4), 685–706.

<https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-12>

Cox, P., Griffith, M., Angles, M., Deere, D., Ferguson, C. (2005). Concentrations of pathogens and indicators in animal feces in the Sydney watershed. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), 5929–5934.

<https://doi.org/10.1128/AEM.71.10.5929-5934.2005>

Çiftçi Türetken, P.S., Altuğ, G. (2016). Bacterial pollution, activity and heterotrophic diversity of the northern part of the Aegean Sea, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188, 127.

<https://doi.org/10.1007/s10661-016-5109-6>

Davies, C.M., Long, J.A., Donald, M., Ashbolt, N.J. (1995). Survival of fecal microorganisms in marine and freshwater sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(5), 1888–1896.

<https://doi.org/10.1128/aem.61.5.1888-1896.1995>

Ford, T.E., Hamner, S. (2018). A perspective on the global pandemic of waterborne disease. *Microbial Ecology*, 76, 2–8.

<https://doi.org/10.1007/s00248-015-0629-0>

Gündoğdu, A., Çarlı, U. (2020a). Sinop Karasu Çayı fiziko-kimyasal özellikleri ve mikrobiyolojik kirliliğinin araştırılması. *Mustafa Kemal Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 25(2), 284–299.

<https://doi.org/10.37908/mkutbd.690179>

Gündoğdu, A., Çarlı, U. (2020b). Microbiological pollution and some physicochemical properties of sıkaraağaçlar creek in sinop (Black Sea-Turkey). *Cumhuriyet Science Journal*, 41(3), 580–593.

<https://doi.org/10.17776/csj.672225>

Hulyar, O., Altuğ, G. (2020). The bacteriological risk transported to seas by rivers; the example of Çırpıcı River, the Sea of Marmara. *International Journal of Environment and Geoinformatics*, 7(1), 45–53.

<https://doi.org/10.30897/ijegeo.704260>

Islam, M.M.M., Hofstra, N., Islam, M.A. (2017). The impact of environmental variables of faecal indicator bacteria in the Betna River Basin, Bangladesh. *Environmental Processes*, 4, 319–332.

<https://doi.org/10.30897/ijegeo.704260>

Kacar, A. (2011). Analysis of spatial and temporal variation in the levels of microbial fecal indicators in the major rivers flowing into the Aegean Sea, Turkey. *Ecological Indicators*, 11(5), 1360–1365.

<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.02.010>

Kalkan, S., Altuğ, G. (2020). The composition of cultivable bacteria, bacterial pollution, and environmental variables of the coastal areas: An example from the Southeastern Black Sea, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192, 356.

<https://doi.org/10.1007/s10661-020-08310-5>

Karaman, U., Koloren, Z., Ayaz, E., Demirel, E., Seferoğlu, O. (2017a). The Protozoa and helminths in the water of Terme and Kocaman Boroughs of Samsun Province. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 24(4), 472–476.

<https://doi.org/10.5455/jtomc.2017.09.124>

Karaman, Ü., Kolören, Z., Seferoğlu, O., Ayaz, E., Demirel, E. (2017b). Samsun il ve ilçelerinden alınan çevresel sularda parazitlerin varlığı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 41, 19–21.

<https://doi.org/10.5152/tpd.2017.3574>

Kiedrzyńska, E., Kiedrzyński, M., Zalewski, M. (2008a). Flood sediment deposition and phosphorus retention in a lowland river floodplain: impact on water quality of a reservoir, Sulejów, Poland. *Ecology & Hydrobiology*, 8(2–4), 281–289.

<https://doi.org/10.2478/v10104-009-0022-z>

Kiedrzyńska, E., Wagner-Łotkowska, I., Zalewski, M. (2008b). Quantification of phosphorus retention efficiency by floodplain vegetation and a management strategy for a eutrophic reservoir restoration. *Ecological Engineering*, 33(1), 15–25.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2007.10.010>

Kolören, Z., Delioğlu, B.K., Taş, B. (2017). Detection of *Cryptosporidium* oocysts by loop mediated isothermal amplification (LAMP) in surface water from River Yeşilirmak and Stream Tersakan (Samsun-Amasya). *Anadolu University Journal of Science and Technology C-Life Sciences and Biotechnology*, 6(1), 31–37.

<https://doi.org/10.18036/aubtdc.269434>

Kolören, Z., Demirel, E., Taş, B. (2011a). Ulugöl (Ordu, Türkiye)'de fekal kirlilik indikatörü bakterilerin tespiti. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi*, 4(2), 151–156.

Kolören, Z., Taş, B., Kaya, D. (2011b). Gaga Gölü (Ordu, Türkiye)'nün mikrobiyolojik kirlilik seviyesinin belirlenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 2(1), 74–85.

Kolören, Z., Kaya, D. (2012). Fecal pollution in rural water supplies of Ordu, at the Mid-Black Sea Coast of Turkey: The effect of climate and environmental elements. *Energy Education Science and Technology Part A: Energy Science and Research*, 28(2), 869–878.

Leifels, M., Sirikanchana, K., Ebdon, J. (2022). Microbiological impact of diffuse pollution sources on water quality. In *Land Use and Water Quality: The Impacts of Diffuse Pollution* (pp. 73–82). IWA Publishing. <https://doi.org/10.2166/9781789061123>

Li, E., Saleem, F., Edge, T.A., Schellhorn, H.E. (2021). Biological indicators for fecal pollution detection and source tracking: A review. *Processes*, 9(11), 2058. <https://doi.org/10.3390/pr9112058>

Liang, L., Goh, S.G., Vergara, G.G.R.V., Fang, H.M., Rezaeinejad, S., Chang, S.Y., ... Gin, K.Y.H. (2015). Alternative fecal indicators and their empirical relationships with enteric viruses, *Salmonella enterica*, and *Pseudomonas aeruginosa* in surface waters of a tropical urban catchment. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(3), 850–860. <https://doi.org/10.1128/AEM.02670-14>

Meals, D.W., Jon B. Harcum, J.B., Dressing, S.A. (2013). Monitoring for microbial pathogens and indicators. *Tech Notes* 9. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-05/documents/tech_notes_9_dec2013_pathogens.pdf (Erişim Tarihi: 05.05.2023)

Medema, G.J., Bahar, M., Schets, F.M. (1997). Survival of *Cryptosporidium parvum*, *Escherichia coli*, faecal enterococci and *Clostridium perfringens* in river water: influence of temperature and autochthonous microorganisms. *Water Science and Technology*, 35(11–12), 249–252. [https://doi.org/10.1016/S0273-1223\(97\)00267-9](https://doi.org/10.1016/S0273-1223(97)00267-9)

MGM. (2020). Meteoroloji Genel Müdürlüğü (MGM), Terme-Kozluk Meteoroloji İstasyonu, Samsun.

Mueller-Spitz, S.R., Stewart, L.B., Klump, J.V., McLellan, S.L. (2010). Freshwater suspended sediments and sewage are reservoirs for enterotoxin-positive *Clostridium perfringens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 76(16), 5556–5562. <https://doi.org/10.1128/AEM.01702-09>

Odonkor, S.T., Ampofo, J.K. (2013). *Escherichia coli* as an indicator of bacteriological quality of water: an overview. *Microbiology Research*, 4(1), e2. <https://doi.org/10.4081/mr.2013.e2>

Şener, Ş., Şener, E., Varol, S. (2020). Hydro-chemical and microbiological pollution assessment of irrigation water in Kızılırmak Delta (Turkey). *Environmental Pollution*, 266, 115214. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115214>

Taş, B., Kolören, Z. (2017). Evaluation of water qualities of discharging area of some runoff waters into Black Sea in the Central Black Sea Region of Turkey. *Review of Hydrobiology*, 10(1), 1–19.

Taş, B., Tepe, Y., Ustaoglu, F., Alptekin, S. (2019). Benthic algal diversity and water quality evaluation by biological approach of Turnasuyu Creek, NE Turkey. *Desalination and Water Treatment*, 155, 402–415. <https://doi.org/10.5004/dwt.2019.24225>

Taş, B., Topaldemir, H. (2021). Assessment of aquatic plants in the Miliç Coastal Wetland (Terme, Samsun, Turkey). *Review of Hydrobiology*, 14(1-2), 1–23.

Taş, B., Yılmaz, Ö., Ustaoglu, F. (2021). Ilıman bir Türkiye nehir havzasında dere su kalitesinin çok değişkenli analiz ve biyolojik yaklaşımlarla değerlendirilmesi. *Acta Aquatica Turcica*, 17(1), 34–55. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.751773>

Taş, B., Topaldemir, H., Ustaoglu, F., Kolören, Z. (2023). Türkiye'nin kuzeyinde ova ve kentsel alanlardan geçen bir akarsuyun mikrobiyal kirlilik göstergelerindeki mekânsal-zamansal değişimlerin değerlendirilmesi. *Aquatic Research*, 6(2), 133–144. <https://doi.org/10.3153/AR23014>

Topaldemir, H., Taş, B., Yüksel, B., Ustaoglu, F. (2023). Potentially hazardous elements in sediments and *Ceratophyllum demersum*: An ecotoxicological risk assessment in Miliç Wetland, Samsun, Türkiye. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 26397–26416. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23937-2>

Savichtcheva, O., Okabe, S. (2006). Alternative indicators of fecal pollution: relations with pathogens and conventional indicators, current methodologies for direct pathogen monitoring and future application perspectives. *Water Research*, 40(13), 2463–2476.
<https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.04.040>

TS EN ISO 6222. (1999). Su kalitesi - Kültürü yapılabilen mikroorganizmaların sayımı - Agar besiyerinde aşılama ile koloni sayımı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

TS EN ISO 9308-1. (2014). Su Kalitesi-*Escherichia coli* ve koliform bakterilerin tespiti ve sayımı-Bölüm 1: Membranla süzme yöntemi. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

USEPA. (2004). Water Quality Standards for Coastal and Great Lakes Recreation Waters. 40 CFR Part 131 [OW-2004-0010; FRL-7837-5]. <https://www.govinfo.gov/con-tent/pkg/FR-2004-11-16/pdf/04-25303.pdf> (Erişim Tarihi: 06.05.2023)

USEPA. (2012). Recreational Water Quality Criteria. Office of Water 820-F-12-058. <https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-10/documents/rwqc2012.pdf> (Erişim Tarihi: 06.05.2023)

Ustaoglu, F., Kükrer, S., Taş, B., Topaldemir, H. (2022). Evaluation of metal accumulation in Terme River sediments using ecological indices and a bioindicator species. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 47399-47415.
<https://doi.org/10.1007/s11356-022-19224-9>

Ustaoglu, F., Taş, B., Tepe, Y., Topaldemir, H. (2021). Comprehensive assessment of water quality and associated health risk by using physicochemical quality indices and multivariate analysis in Terme River, Turkey. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(44), 62736–62754.
<https://doi.org/10.1007/s11356-021-15135-3>

Ustaoglu, F., Tepe, Y., Taş, B. (2020). Assessment of stream quality and health risk in a subtropical Turkey river system: A combined approach using statistical analysis and water quality index. *Ecological Indicators*, 113, 105815.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105815>

Verep, B., Taşpınar Ölmez, B., Mutlu, C. (2019). Salarha Havzası Akarsularında Bakteriyolojik ve Yüzey Aktif Madde Kirliliğinin İncelenmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Dergisi*, 4(3), 565–574.
<https://doi.org/10.35229/jaes.636277>

Wang, J., Deng, Z. (2019). Modeling and predicting fecal coliform bacteria levels in oyster harvest waters along Louisiana Gulf coast. *Ecological Indicators*, 101, 212–220.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.01.013>

YSKY. (2012). Yerüstü Su Kalitesi Yönetmeliği (YSKY). 30.11.2012 tarih ve 28483 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Yüksel, B., Ustaoglu, F., Arica, E. (2021). Impacts of a garbage disposal facility on the water quality of Çavuşlu Stream in Giresun, Turkey: A health risk assessment study by a validated ICP-MS assay. *Aquatic Sciences and Engineering*, 36(4), 181–192.
<https://doi.org/10.26650/ASE2020845246>



Farklı LED ışıklar altında yetiştirilen köksüz su mercimeğinin (*Wolffia arrhiza*) Dumas yöntemi kullanılarak ham protein içeriğinin belirlenmesi

Beyhan TAŞ¹, Faruk Tolga ŞENGÜLENDİ²

Cite this article as:

Taş, B., Şengüleri, F.T. (2023). Farklı LED ışıklar altında yetiştirilen köksüz su mercimeğinin (*Wolffia arrhiza*) Dumas yöntemi kullanılarak ham protein içeriğinin belirlenmesi. *Aquatic Research*, 6(3), 189-200. <https://doi.org/10.3153/AR23019>

¹ Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Ordu, Türkiye

² Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Ordu, Türkiye

ORCID IDs of the author(s):

B.T. 0000-0001-6421-2561

F.T.Ş. 0000-0002-2114-3778

Submitted: 11.04.2023

Revision requested: 12.05.2023

Last revision received: 16.05.2023

Accepted: 03.06.2023

Published online: 27.06.2023

Correspondence:

Beyhan TAŞ

E-mail: beyhantass@gmail.com



© 2023 The Author(s)

Available online at

<http://aquatres.scientificwebjournals.com>

ÖZ

Köksüz su mercimeği insanlar için potansiyel bir yüksek proteinli gıda kaynağıdır. Lemnaceae familyasının kök, gövde ve yaprakları indirgenmiş bir üyesi olan *Wolffia*, dünyanın en küçük spermatofitidir. *Wolffia* türleri ile yapılan bilimsel araştırmalar oldukça yeni olup, bu türün Türkiye’de nadir olduğu düşünülmektedir. Doğal ya da kültür ortamındaki çevresel faktörler, bitkilerin fitokimyasalları ve besinsel bileşimleri üzerinde önemli bir etki gösterir. Bu çalışmada, Yeşilirmak Deltası’nda (Samsun) lokal bir alandan toplanıp kültüre alınan *Wolffia arrhiza*, kontrollü koşullarda farklı LED ışıklar altında yetiştirilmiştir. Ham protein miktarının belirlenmesinde Dumas metodu kullanılmıştır. Azot (%) içeriğinin standart dönüşüm faktörü 6.25 ile çarpılmasıyla hesaplanan protein içeriği, literatürlerdeki farklı dönüşüm faktörleri kullanılarak da değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, köksüz su mercimeğinin farklı ışık spektrumları ile yapay aydınlatma koşullarında başarılı bir şekilde yetiştirildiği kanıtlanmıştır. Doğal ortamdaki köksüz su mercimeğinin %10 civarında olan protein içeriği, kırmızı LED ışıkta oldukça yükselmiştir (%41.6 protein). Farklı ışıkların *W. arrhiza* protein içeriğine etkisi kırmızı LED > mavi LED > mor LED > floresan şeklinde gözlenmiştir. Yüksek protein içeriği, çevre dostu ve sürdürülebilir üretimi ile *Wolffia*, yakın gelecekte geleneksel mahsullere alternatif bir ürün olarak, bitki bazlı protein ve fonksiyonel gıda pazarında hızla yer alabilir potansiyele sahiptir.

Anahtar Kelimeler: Alternatif protein kaynağı, Su mercimeği, Bitki bazlı protein, İnsan gıdası, LED

ABSTRACT

Determination of crude protein content using the Dumas method of rootless duckweed (*Wolffia arrhiza*) grown under different LED lights

Rootless duckweed (*Wolffia* spp.) has the potential high-protein food source for humans. *Wolffia* is a member of the Lemnaceae family and is the world's smallest spermatophyte, with reduced roots, stems, and leaves. Scientific research on *Wolffia* species is relatively new, and this species is believed to be rare in Turkey. The phytochemicals and nutritional composition of plants are significantly affected by environmental factors in the natural or cultivated medium. In this study, *Wolffia arrhiza* was collected and cultured from a local area in Yeşilirmak Delta (Samsun) grown under controlled conditions using different LED lights. The Dumas method was used to determine the amount of crude protein. The protein content, calculated by multiplying the nitrogen (%) content by the standard conversion factor 6.25, was also evaluated by using different conversion factors in the literature. The results showed that rootless duckweed can be successfully grown under artificial lighting conditions with different light spectrums. The protein content of rootless duckweed, which was around 10% in the natural environment, increased considerably under red LED light (41.6% protein). The effect of different lights on protein content of *W. arrhiza* was observed as red LED > blue LED > purple LED > fluorescent. With its high protein content, environmentally friendly and sustainable production, *Wolffia* has the potential to quickly take place in the plant-based protein and functional food market as an alternative to traditional crops in the near future.

Keywords: Alternative protein source, Duckweed, Plant-based protein, Human food, LED

Giriş

Suda serbest yüzen monokotil su bitkilerinden olan su mercimekleri, Lemnaceae familyasına ait 5 cins (*Landoltia*, *Lemna*, *Spirodela*, *Wolffia* ve *Wolffiella*) ve 36 tür içerir (Sree ve ark., 2015; Bog ve ark., 2019; Bog ve ark., 2020; Tippery ve Les, 2020). Su mercimeklerinin en küçük bireyi olan ve kökleri indirgenmiş olan *Wolffia*, dünyanın da en küçük spermatofitidir. Su mercimekleri hızlı büyüme oranları, yüksek besin alım kapasiteleri, yenilebilirlikleri, yetiştirme koşullarına bağlı olarak besin içeriğinin ve değerlerinin değişkenliği gibi karakteristik özellikleriyle (Xu ve ark., 2011; Xu ve Shen, 2011; Ziegler ve ark., 2015), insan gıdası ve hayvan yemi olarak, biyoteknoloji alanında, fitoremediasyon çalışmalarında, yenilenebilir enerji gibi oldukça farklı alanlarda kullanım için potansiyel bir kaynaktır (Cui ve Cheng, 2015; Appenroth ve ark., 2017; Petersen ve ark., 2022).

Küresel iklim değişikliği ve dünya nüfusu hızla artarken, tarım alanları yavaş yavaş azalmaktadır. Bu durumda küresel gıda kıtlığı gelecekte daha da kritik hale gelecektir (van Dijk ve ark., 2021). Fonksiyonel ve besleyici gıda olarak kullanılan algler gibi (Taş ve Şengüllendi, 2022a), su mercimeği de birçok içsel avantaja sahip olduğu için, geleneksel tahıl ve tahıl mahsullerine kıyasla son yıllarda oldukça ilgi çekmektedir (Appenroth ve ark., 2017; 2018; Xu ve ark., 2022). Örneğin, algler gibi, su mercimeği de hızla büyür, yetiştirme için büyük tarım arazilerine gerek duymaz ve tarım arazisi ile rekabet etmeden üretilebilir. Su mercimekleri, özellikle *Wolffia* türleri insan beslenmesi için değerli bileşenler içerir ve protein, yağ, nişasta ve diyet lifi bakımından en yüksek verime sahiptir (Appenroth ve ark., 2017; 2018). Su mercimeği Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) tavsiyesini karşılayan yeterli tüm esansiyel amino asitleri (EAA) sağlayabilir ve faydalı pigmentler ve antioksidanlar açısından zengindir. Ayrıca, su mercimeği fonksiyonel özellikler ve besinler sağlayan nişasta, selüloz, eser miktarda hemiselüloz ve pektin gibi çok yönlü karbonhidratlar da içerir (Appenroth ve ark., 2017; Xu ve ark., 2022). Bitkisel bir protein kaynağı ve tüm EAA'ları içeren su mercimeği, vücudumuzun ihtiyacı olan yüksek kaliteli proteinin yanı sıra lif, demir, folat, magnezyum ve potasyum gibi diğer besin maddeleri açısından da zengindir. Bu nedenle, sağlıklı bir beslenme planı için mükemmel bir seçenektir. Özellikle vejetaryenler veya veganlar için sağlıklı ve önemli bir gıdadır. Su mercimeklerinin proteinler, çoklu doymamış lipidler, lifler, mikro besinler ve

diğer bazı biyoaktif bileşikler dahil olmak üzere zengin bir yaşamsal makro besin kaynağı oluşturması, iyi dengelenmiş bir amino asit profiline sahip olmaları, bu bitkileri insan gıdası olarak formüle etmek için harika bir aday yapar (Diwan, 2023).

Su mercimeği, tatlı sularda doğal olarak yetişir. Ilıman iklim kuşağında bulunan Türkiye'nin kuzeyinde yer alan Yeşilirmak ve Kızılırmak deltaları su mercimeğinin yetişmesi için oldukça uygun sucul habitatlara sahiptir. Daha ılıman bir iklim, gölgeli habitatlar, düşük ışık yoğunlukları ve aşırı sıcaklıkların az olması gibi abiyotik faktörler nedeniyle deltadaki sığ göller, lagünler, sulak alanlar, kanal ve hendeklerde zaman zaman su mercimekleri aşırı çoğalmalar yapmaktadır (Taş ve Topaldemir, 2021). Su mercimeği yetiştiriciliği için, uygun çevresel koşullar altında, seralarda verimli sistemler kurmak ve sürdürülebilir şekilde yıl boyu hasat elde etmek mümkündür (Arslan Günal ve Taş, 2022; Taş ve Şengüllendi, 2022b). Abiyotik faktörlerden ışık yoğunluğu ve spektral ışık dağılımı (Petersen ve ark., 2022) yetiştiricilik için önemlidir. Örneğin, çok yüksek ışık yoğunluğu ışık doygunluğuna yol açar, dolayısıyla bitkinin fotosentetik aktivitesini artırmaz (Landolt ve Kandeler, 1987). Mavi ışıkla yetiştirilen *W. arrhiza*'nın kırmızı ışığa kıyasla daha yüksek klorofil içerdiği bildirilmiştir. Ancak, yapılan çalışmalar, abiyotik faktörlerin farklı su mercimeği türlerinde farklı sonuçlar çıkarabileceğini göstermiştir (Wedge ve Burris, 1982; Yin ve ark., 2015; Paolacci ve ark., 2018; Stewart ve ark., 2020). Işık yayan diyot (LED, Light Emitting Diode) teknolojisinin gelişmesiyle, bitki yetiştiriciliğinde verim ve kaliteyi arttırmak hedeflenmiş, son yıllarda bitki üretiminde geleneksel aydınlatma sistemlerine alternatif olarak LED kullanımı yaygınlaşmıştır. Bununla birlikte, bitki gelişimi ve fizyolojisi, büyüme ortamı ışık spektrumundan güçlü bir şekilde etkilendiği için, bitkinin fizyolojik tepkilerini anlamaya yönelik yeni araştırmalarda LED aydınlatma kullanımı yaygınlaşmaya başlanmıştır (Taş ve Şengüllendi, 2022b).

Su mercimeği pazarının, 2030 yılına kadar farklı gelişim fırsatlarına kapı açacağı öngörülmektedir (Diwan, 2023). Artan dünya nüfusu ile birlikte yenilikçi, besleyici, sağlıklı ve çevre dostu gıdalara olan ihtiyaç su mercimeklerini ön plana çıkarmıştır. Gıdaların temeli olan protein üretimi için ek ve sürdürülebilir biyokütle kaynağına yönelik küresel olarak su mercimeği proteinlerine olan ilginin arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, protein kaynağı olarak su mercimeklerinin

potansiyelini doğru bir şekilde belirlemek için, güvenilir kantitatif yöntemler gerekmektedir. Bitki dokusundaki toplam azot (TN) içeriği Kjeldahl yöntemi veya CHN/S organik element analizörleri kullanılarak yakma yoluyla belirlenebilmektedir. Protein içeriğinin belirlenmesinde ise çoğunlukla Kjeldahl azotu (Kj-N) faktörü olarak bilinen 6.25'lik dönüşüm faktörü ile TN çarpılmakta ve yaygın olarak bu yöntem kullanılmaktadır. Doğrudan ekstraksiyon yoluyla da protein analizleri yapılmaktadır, ancak bu yöntemle ilgili yaşanan teknik sorunların aksine, bitki dokusundaki TN içeriği Kjeldahl veya elementel analizörler kullanılarak daha güvenilir olarak belirlenebilir. Çünkü bu yöntemlerle belirlenen toplam doku azotu içeriği, doğrudan ekstraksiyon prosedürlerinden daha az değişkendir. Fakat bu yöntemlerin yanılabilirliği, daha sonra toplam proteini hesaplamak için kullanılan dönüştürme faktörüdür (Angell ve ark., 2016). Deniz alglerinin protein içeriğinin incelendiği bir meta-analizde, proteomik amino asitlerin toplamı olarak tanımlanan, doğrudan ekstraksiyon prosedürlerinin protein içeriğini %33 oranında az, en sık kullanılan, azottan proteine dönüşüm faktörü olan 6,25'in kullanıldığı durumda ise protein içeriğinin %43 oranında fazla tahmin edildiği belirtilmiştir (Angell ve ark., 2016). Bu nedenle, farklı gıda ve bitki gruplarında olduğu gibi, su mercimeklerinin protein içeriğini belirlemeye yönelik evrensel bir dönüşüm katsayısının belirlenmesine ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, doğal ortamından toplanıp kültürü yapılan ve kontrollü koşullarda, farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeği *W. arrhiza*'nın ham protein içeriği analiz edilerek, LED ışıkların protein içeriğine etkisi incelenmiştir. Dumas metoduyla belirlenen %N üzerinde protein içeriği hesaplanırken, standart Kj-N katsayısı ile birlikte farklı dönüşüm faktörleri de kullanılmıştır. Çalışmada *W. arrhiza*'nın seçilmesinin nedeni, Türkiye'de henüz tanınmaması, yüksek büyüme hızı ve protein içeriği, değerli fitokimyasallarıyla nutrasötik ve farmasötik alanda kullanım potansiyelinin yüksek oluşu ile ilgili ön çalışmalarda iyi performans göstermesidir. Köksüz su mercimeğinin üretiminin yapılarak ülke ekonomisine ve bitki bazlı protein pazarına katkı sağlanması umulmaktadır.

Materyal ve Metot

Biyolojik Materyal ve Büyüme Koşulu

Köksüz su mercimeği türü, *W. arrhiza*, *Yeşilirmak Delta'sı*'ndan (Samsun) toplanmıştır (Taş ve Topaldemir, 2021).

Ordu Üniversitesi (ODÜ) Hidrobiyoloji Laboratuvarı'nda kültüre alınan köksüz su mercimeği stok kültürü elde edilmiştir (Şekil 1). *W. arrhiza*, suda serbest yüzen, yaprak olarak niteleyebileceğimiz frond adı verilen yapısı alg tallusuna benzeyen, yüzeyi şeffaf olmayan parlak yeşil renktedir (Taş ve Şengüllendi, 2022b). Yapraklar genişliğinin 1–1.5 katı derinliğinde, küresel ila elipsoid, üst yüzeyde dış bükey, en büyük genişliği su yüzeyinin biraz altında, 0.5–1.5 mm uzunluğunda, 0.4–1.2 mm genişliğindedir. Bitkiler bazen çiçek açar ve nadiren meyve verir. Tohumlar 0.4–0.5 mm uzunluğunda, yaklaşık 0.4 mm kalınlığındadır (Bog ve ark., 2020). Toplu iğne başı büyüklüğündeki bitkicik, tomurcuklanma gibi vejetatif olarak hızla çoğalmaktadır (Şekil 1).

W. arrhiza büyüme ortamı olarak sentetik "N ortamı" kullanılmıştır (Appenroth ve ark., 2017). N ortamı su mercimeklerinin yetiştirilmesi için önerilen bir ortamdır. Bu ortam aşağıdaki kimyasalların karışımıyla hazırlanmıştır. Kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıkta olup Merck KGaA (Almanya)'dan satın alınmıştır.

Stok 1: 4.083 g/L KH₂PO₄; *Stok 2:* 47,23 g/L Ca(NO₃)₂.4H₂O; *Stok 3:* 161.8 g/L KNO₃, 61.8 mg/L H₃BO₃, 514.5 mg/L MnCl₄.H₂O, 9.4 mg/L Na₂MoO₄.2H₂O, 49.30 g/L MgSO₄.7H₂O; *Stok 4:* 1.835 g/L FeNaEDTA. Hazırlanan stoklar +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Bir litre besin ortamı hazırlamak için her stok solüsyondan 5 mL kullanılmış, pH 5.5'e ayarlanıp 121°C'de 15 dak. otoklavda steril edilmiştir. Oda sıcaklığına soğutulan steril ortamlar kültürlerin çoğaltılmasında kullanılmıştır.

W. arrhiza yetiştirmek için, ODÜ Hidrobiyoloji Laboratuvarı'ndaki steril iklim kabini kullanılmıştır (Grotech/GR08, Unitroniks® Vision350™). Dört plastik kap (uzunluk × genişlik × yükseklik: 64 cm × 43 cm × 18.5 cm) içine aşılana köksüz su mercimeği, farklı LED'ler [kırmızı, mavi, mor (kırmızı+mavi)] ve floresan ışıklı rafların altına yerleştirilmiştir (Şekil 2). Farklı LED ışıklı panolar şerit LED'ler kullanılarak laboratuvarında hazırlanmıştır. Su yüzeyinin 30 cm yukarısına yerleştirilen LED'lerin ışık yoğunluğu 70–80 µmol/cm²/s, iklim dolabının floresan lamba (Polylux XLR™, F18W/827, Hungary) ışık yoğunluğu (sıcak beyaz, 4 adet) 4500 lux'dür. LED ışıkların yoğunluğu PPF meter (AMS TCS3701 LIGHT ALS renk sensörü, Samsung), floresan ışık yoğunluğu multimeter (MASTECH® MS6300, Environment Multimeter, Mastech Group, Hong Kong) kullanılarak ölçülmüştür. İklimlendirme koşulu olarak 16/8 aydınlık/karanlık

fotoperiyot, $24 \pm 1^\circ\text{C}$ sıcaklık, 70°C nem ayarlanmıştır. Kontrollü koşullarda çoğalan *W. arrhiza*, dört günün sonunda hasat edilmiştir. Distile su (dH_2O) ile yıkanan köksüz su mercimeğinin fazla suyu havlu peçete ile alınıp derin dondurucuya kaldırılmış, ardından liyofilizatörde (FreeZone® 2.5, Labconco) kurutulmuştur. Kuru örnekler mekanik öğütücüde (Waring 8011 EB Blender) toz haline getirildikten sonra analizler yapılincaya kadar -21°C 'de muhafaza edilmiştir.

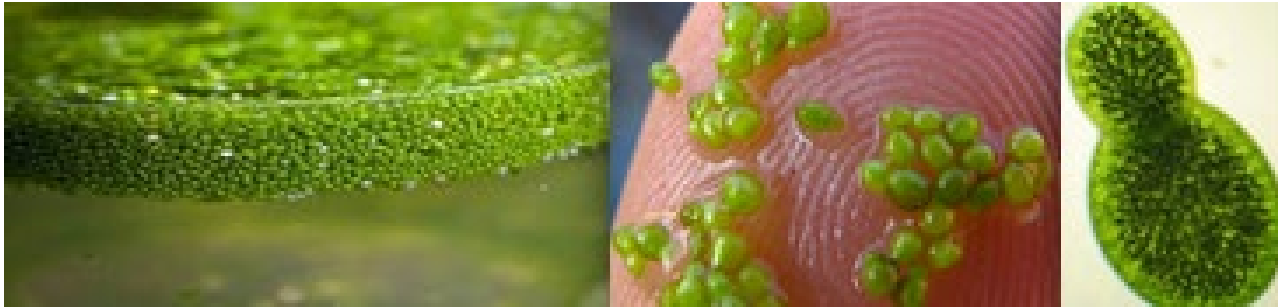
Dumas Metoduyla Ham Protein Analizi

Toplam azot (TN) içeriği, Ordu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan bir CHNS analizörü (vario MICRO cube, Elementar, Germany) kullanılarak, Dumas prosedürüne göre analiz edilmiştir. Bu yöntemde 1–2 mg dondurularak kurutulmuş bitki materyali yakılmış ve üretilen azot, termal iletkenlik sensörü ile ölçülmüştür. Tüm azot formları yandığında, bu analiz organik, nitrat, nitrit ve amonyum azotunun toplamını verir (Devlamynck ve ark., 2020). Cihazda taşıyıcı gaz olarak helyum, referans standart olarak sülfanilamid kullanılmıştır. CHNS analizöründe her numuneden üç kopya analiz edilen TN miktarı, bitki kuru

ağırlıklarına dayalı olarak Elementar Vario yazılımı tarafından yüzde olarak belirlenmiştir. Farklı LED ışıklarda yetiştirilen köksüz su mercimeğinin kuru ağırlık bazında protein içeriği (% ham protein), Kj-N'nin 6.25 faktörü ile çarpılmasıyla ($\text{N} \times 6.25$) hesaplanmıştır (Kjeldahl, 1883; Casal ve ark., 2000). Bunun yanı sıra, güncel literatürlerde belirtilen farklı N-protein dönüştürme faktörleri de kullanılarak [F(5.8), Nieuwland ve ark., 2021; F(5.6), Mariotti ve ark., 2008; F(5), Angell ve ark., 2016] protein değerleri karşılaştırılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Farklı ışık grupları arasında değişkenin nicel ortalamalarına göre anlamlı bir farklılığın olup olmadığını test etmek için Kruskal-Wallis testi yapılmıştır. Bu test, tek yönlü varyans analizinin (ANOVA) parametrik olmayan karşılığıdır. İstatistiksel analiz yapıldığında MINITAB 16 (Minitab Inc., State College, Pennsylvania, ABD) kullanılmıştır. Yine, elde edilen sonuçlardan Origin Pro Lab (Origin 8.5, 2021) yazılımı kullanılarak hot plot grafiği hazırlanmıştır.



Şekil 1. Köksüz su mercimeği, *Wolffia arrhiza* (original)

Figure 1. Rootless duckweed, *Wolffia arrhiza* (original)



Şekil 2. İklim dolabında farklı LED aydınlatmada *W. arrhiza* yetiştirme, hasat ve kurutma

Figure 2. Growing, harvesting and drying *W. arrhiza* in different LED lighting in climate cabinet

Bulgular ve Tartışma

Azot, bitkisel proteinlerin ana bileşenidir, bu nedenle yüksek azot içeriği, bitkilerin yüksek protein içeriği ile ilişkilendirilir. Lemnaceae ailesine ait su bitkilerinin azot içeriği oldukça yüksektir, genellikle %3 ila %5 arasında değişir. Bitki büyüme süreçlerini katalize eden ve düzenleyen azot, çeşitli enzimatik proteinlerin bir parçasıdır (Sinfield ve ark., 2010). Karbon, hidrojen ve oksijenden sonra azot, fotosentez işlemi için temel olan klorofil üretimindeki kilit rolü nedeniyle bitkilerdeki temel elementlerden biridir. Ayrıca azot, parazitlere ve bitki hastalıklarına karşı koruma sağlayan kimyasal bileşenlerin üretimine de katkıda bulunur (Hoffland ve ark., 2000).

Çalışmamızda, kontrollü koşullarda, farklı ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın CHNS analizörü ile belirlenen (Dumas metodu) TN miktarı Tablo 1'de görülmektedir. Farklı ışıkların bitkideki azot içeriğini değiştirdiği görülmektedir. Köksüz su mercimeğinin ham protein içeriği üzerine, farklı ışık spektrumlarının anlamlı bir etkisinin olup olmadığını test etmek için Kruskal-Wallis testi yapılmıştır. Analiz sonucu, farklı ışık kaynaklarının *W. arrhiza*'nın ortalama protein değerleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu ortaya koymuştur ($H=13.23$; $p<0.001$; $df=4$).

Yeşilirmak Deltası'ndaki doğal ortamdan toplanan *W. arrhiza*'nın TN içeriği yaklaşık %1.6'dır. Kontrollü laboratuvar koşullarında, sentetik N ortamında, floresan ve farklı LED ışıklar altında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın TN içeriği doğal ortamdakine göre oldukça artış göstermiştir. Bu artış, kırmızı

LED ışıkta %316, mavi LED ışıkta %261, mor LED ışıkta %246 oranındadır. LED ışıklara kıyasla beyaz floresan ışıkta yetiştirilen *W. arrhiza*'nın TN içeriği daha azdır, fakat doğal ortamdakinden %162.5 oranında daha fazladır. Köksüz su mercimeğindeki farklı protein içeriklerinin ışık spektrumlarının ve yoğunluklarının farklılığından kaynaklandığını söyleyebiliriz.

Organik bileşiklerde azot tayini için en çok kullanılan yöntemlerden biri Kjeldahl metodudur (Kjeldahl, 1883). Bu metod gıda, içecek, et, yem, tahıl, gübre, atık su, toprak ve bitki dokusunda azot tayini için yaygın olarak kullanılmaktadır (Muñoz-Huerta ve ark., 2013). Klasik Kjeldahl metoduna alternatif olarak, CHNS analizörü kullanılarak Dumas (yakma) metodu ile de azot analiz edilebilir. Bu iki metod, proteinlerde bulunan toplam azotun dikkate alındığı metodlardır. Doku analizine dayalı bu metodlar, organik azot tayinindeki güvenilirlikleri nedeniyle bitkilere yaygın olarak uygulanmıştır (Muñoz-Huerta ve ark., 2013). Kjeldahl metodu basit ve doğruluğu kanıtlanmış, referans bir yöntemi oluştururken, Dumas metodu, toplam azotu doğru bir şekilde tahlil eder (Wiles ve ark., 1998). Geleneksel dönüştürme faktörü (6.25), köksüz su mercimeğinde protein içeriğini olduğundan fazla tahmin etmektedir (Tablo 1). Bununla birlikte, bir dönüşüm faktörünün kullanılması, dokudaki azot ölçümüne dayalı olarak proteini tahmin etmenin basit bir yolu olduğundan, hala çalışmaların çoğu için tercih edilen bir yöntem olmaya devam edecek standart bir yaklaşım olarak görülmektedir.

Tablo 1. N-protein dönüşüm faktörleri kullanılarak farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın ham protein içeriği

Table 1. Crude protein content of *W. arrhiza* grown in different LED lights using N-protein conversion factors

Işık kaynağı	TN (%)	Ham protein (%)				
		F(6.25)	F(5.8)	F(5.6)	F(5)	Ort.
Doğal	1.6	10	9.3	8.9	8	9.1
Floresan	4.2	24	24.1	23.3	20.8	23.1
Kırmızı LED	6.7	41.6	38.6	37.3	33.3	37.7
Mavi LED	5.8	36.1	33.5	32.4	28.9	32.7
Mor LED	5.5	34	32.1	31	27.6	31.2

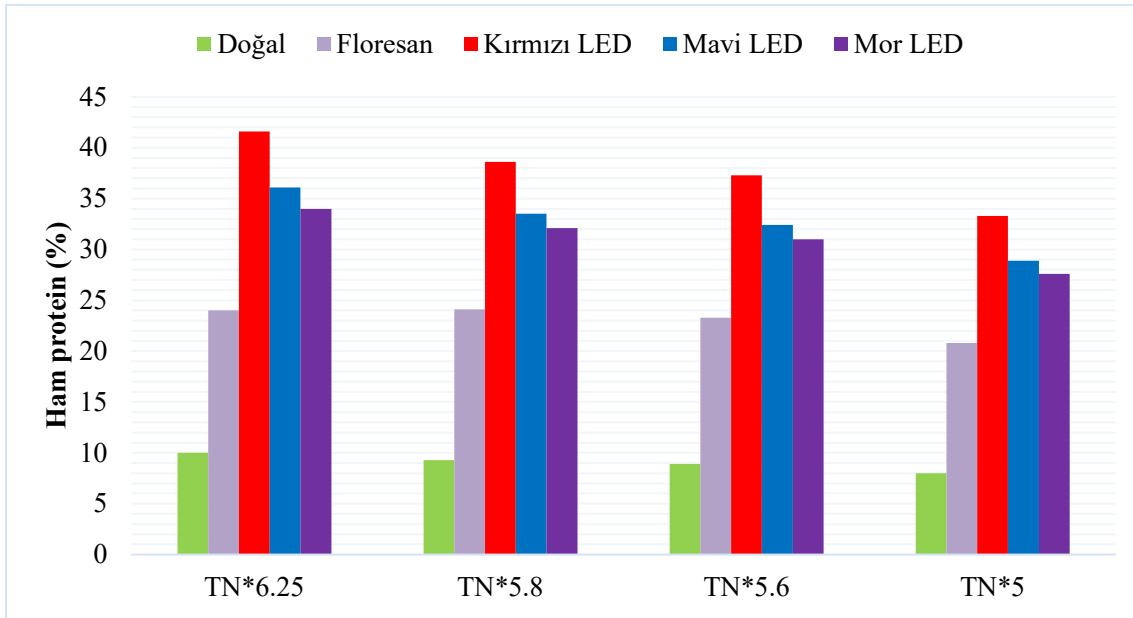
TN: Dumas metoduyla analiz edilen toplam azot içeriği (organik, amonyum, nitrit ve nitrat azotu)

Dumas metodu kullanılarak genellikle biraz daha yüksek azot seviyeleri bulunur. Bu, numunedeki tüm azot formlarının değerlendirilmesinde daha yüksek bir toplam verimlilikle açıklanabilir (Daun ve DeClercq, 1994; Thompson ve ark., 2002). Kjeldahl yöntemiyle karşılaştırıldığında, Dumas prosedürünün birkaç avantajı vardır, çünkü daha az güçlü reaktant tüketir, daha az emek gerektirir ve numunelerden azotu serbest bırakmak için daha verimli bir sıcaklıkta çalışır (Etheridge ve ark., 1998). Sonuç olarak, bu yöntem gıda ve yem numunelerindeki toplam azotu analiz etmek için giderek daha fazla tercih edilmektedir. Dumas metodu organik bağlı azotun önemli ölçüde fazla tahmin edilmesine yol açar, bu nedenle ham protein tahmini için, Dumas metodu protein içeriği tayini için kullanılacaksa, bu yönteme özgü yeni bir dönüştürme faktörü belirlenmelidir (Devlamynck ve ark., 2020). Genellikle bitkisel proteinler için Kj-N katsayısı olan 6.25 yaygın olarak kullanılmasına rağmen, elde edilen sonuçlar, örneklerin gerçek protein içeriğini temsil etmez. Bunun nedeni, örneklerdeki azotun, protein dışındaki diğer bileşiklerin yapıtaşı olabileceği gerçeğidir. Bu nedenle, Kj-N katsayısıyla belirlenen protein miktarı, “toplam protein” miktarını ifade eder. Genel olarak, çoğu analitik yöntem protein içeriğini olduğundan fazla tahmin etmiştir. Hatalar, dolaylı ölçümlerle, yani azot tayini ve müteakip protein dönüştürme veya diğer kimyasal maddelerden kaynaklanan girişim ile bağlantılıdır. İnsan diyetinin bu kadar önemli bileşenleri olarak, gıdalardaki protein içeriğini bilmek çok önemlidir ve bu nedenle güvenilir analitik yöntemlere sahip olmak önem arz etmektedir (Mæhre ve ark., 2018).

Çalışmamızda, Dumas metoduna göre, köksüz su mercimeğinde bulunan TN miktarından protein içeriği (% ham protein) hesaplanırken hem geleneksel Kj-N faktörü hem de güncel literatürlerdeki su mercimeği için uygun olabilecek farklı faktörler kullanılmıştır (Tablo 1). *W. arrhiza*'da Kj-N faktörü (6.25) ile hesaplanan protein içeriği farklı LED ışıklarda yaklaşık %34 ila %42 arasında değişmiştir. En yüksek protein kırmızı LED ışıkta yetiştirilen numunelerde hesaplanmıştır (%41,6). Bunu mavi ve mor LED ışıklarda yetiştirilen numuneler takip etmiştir (Şekil 3). Floresan ışıkta protein içeriği LED ışıklardan daha azdır. Köksüz su mercimeği (*W. arrhiza*) için Kj-faktörü olarak 5.7–5.8 arasında bir değer önerilmektedir (Nieuwland ve ark., 2021). Bu değerler kullanıldığında, kırmızı LED ışıkta yetiştirdiğimiz

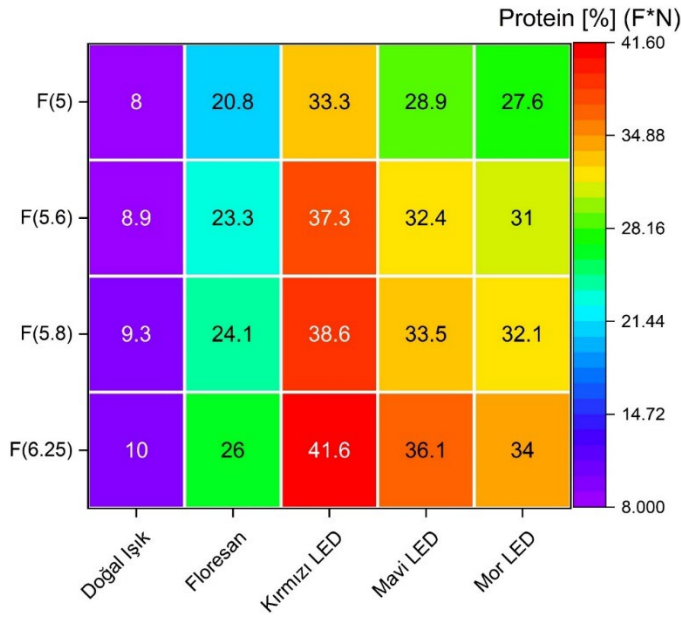
W. arrhiza'nın protein içeriği %38–39 olarak hesaplanmaktadır. Ancak, bitkinin yetiştiği koşullar, genetik varyasyonlar ve diğer faktörler, Kjeldahl faktörü değerini etkileyebilir. Bu nedenle, protein hesaplamaları yapılırken doğru Kjeldahl faktörünü kullanmak için uygun literatür kaynaklarına başvurulmalıdır.

Nieuwland ve ark. (2021), şişman su mercimeği *Lemna gibba*'da ham protein içeriğini standart ve onaylanmış bir Dumas azot analiz yöntemi kullanılarak incelemiştir. Yarı konsantre Hoagland çözeltisinde, 18 saat ışık ve 20 ila 30 °C sıcaklık arasında üretilen ve dondurularak kurutulan *L. gibba*'nın ham protein miktarı, ıspanaktan ve şeker pancarı yaprağından elde edilen RuBisCO'nun (RuBisCO, tüm yeşil bitkilerde karbon fiksasyonunda önemli rol oynayan proteindir ve “yaprak proteini” nin ana bileşenidir) 5.8'lik dönüştürme faktörü kullanılarak hesaplanmıştır. *L. gibba*'da ham protein içeriğinin, literatürde bildirilen diğer su mercimeği çeşitlerine benzer şekilde (Xu ve Shen, 2011), kuru ağırlık bazında yaklaşık %34 (33.6 g/100 g) olduğu bildirilmiştir. Bu değer protein izolasyonu için kullanılan diğer yaprak kaynaklarına kıyasla daha yüksek olduğu, örneğin kuru ağırlık bazında proteinin ıspanakta %28, marulda %25, şeker pancarından %18 olduğu ifade edilmiştir (WHO, 1970). Dumas metoduyla analizini yaptığımız *W. arrhiza*'da 5,8 katsayısını kullanarak belirlediğimiz ham protein içeriği (%N*5,8), farklı ışık kaynaklarının etkisinde, kuru ağırlık bazında yaklaşık %24 ila %39 aralığında hesaplanmıştır. Kjeldahl faktörüyle (%N*6.25) hesaplandığında *W. arrhiza*'da ham protein %26 ila %42 aralığındadır. Yani standart Kj-N faktörü ile hesaplama yapıldığında daha yüksek protein içeriği elde edilmektedir. Farklı LED ışıkların floresan ışığa kıyasla, *W. arrhiza*'nın gelişimini pozitif yönde etkilediği gözlenirken, kırmızı LED ışığın azot içeriğini, dolayısıyla protein seviyesini yükselttiği tespit edilmiştir. Farklı ışık kaynaklarında yetiştirilen *W. arrhiza*'nın farklı katsayılar kullanılarak hesaplanan protein içeriği hot plot grafiğinde Şekil 4'te görülmektedir. Grafikte, protein yoğunluğu farklı renkler ve tonlar kullanılarak ifade edilmiş, protein içeriğinin az olduğunu mor renkten protein içeriğinin en yüksek olduğunu kırmızı rene doğru değişim gösterilmiştir. Çalışmamızın sonuçlarına göre, *W. arrhiza*'dan *L. gibba*'ya göre daha yüksek oranda protein elde edilebileceğini ifade edebiliriz. Hatta geliştirilecek farklı metotlarla bu oran daha da yükseltilebilir.



Şekil 3. *W. arrhiza*'da ham protein içeriğinin farklı ışık spektrumlarında değişimi

Figure 3. Variation of crude protein content in *W. arrhiza* in different light spectra



Şekil 4. *Wolffia arrhiza*'da protein içeriğinin hot plot grafiği

Figure 4. Hot plot graph of protein content in *Wolffia arrhiza*

Küçük ölçekli kapalı dikey bir sistemde, farklı ışık yoğunluğu ve spektrumun su mercimeği *L. minor* ve *W. hyalina* büyümesi ve proteinleri üzerindeki etkisinin incelendiği bir

çalışmada, TN Dumas metodu ile analiz edilmiş ve 6.25 faktörüyle ham protein hesaplanmıştır. Ham protein *L. minor*'da %31.8–%32.4, *W. hyalina*'da %39.3–%40 oranında tespit edilmiştir. Bir tür içindeki farklı ışık yoğunluklarının ve spektral dağılımların ham proteinde önemli bir fark yaratmadığı belirtilmiştir (Petersen ve ark., 2022). Oysa çalışmamızda, *W. hyalina*'dan farklı olarak, *W. arrhiza*'da farklı ışık yoğunluğu ve spektrum ham protein içeriğini değiştirmiş, 6.25 faktörüyle en yüksek protein %41.6 oranında kırmızı LED ışıkta, en az protein ise %34.5 oranında mor LED ışıkta yetiştirilen bitkide tespit edilmiştir (Şekil 4). Mevcut bulgularımız, LED ışıkların bitkinin büyümesi ve besin içeriği üzerinde olumlu etkileri olduğunu göstermiştir. Doğal ekosistemden (Yeşilirmak Deltası'ndan) toplanan *W. arrhiza*'nın protein içeriği oldukça düşük iken (%10), kontrollü koşullarda farklı ışık spektrumlarının, özellikle LED ışıkların protein miktarını artırdığı görülmüştür. Köksüz su mercimeğinin protein içeriğinin arttırılmasında LED ışığın floresan ışığa göre daha verimli, etkili ve avantajlı olduğunu söyleyebiliriz. Farklı LED ışıkların *W. arrhiza*'nın element (C, H, N, S) içeriğini değiştirdiği belirlenmiştir (Taş ve Şengüllendi, 2022). Dolayısıyla ışık kalitesi ve çeşidi, yetiştiriciliği yapılan bitki türlerinin nutrasötik özelliklerini geliştirerek biyoaktif bileşiklerin üretimini artırabilir. Aynı zamanda insan sağlığı üzerinde değerli etkileri olan primer ve sekonder metabolitlerin biyosentezini

de etkiler.

Ham protein hesaplamalarında dönüşüm faktörlerinin etkili olduğuna ve doğru katsayının kullanılması gerektiğine dikkat çekmek isteriz. Örneğin, Angell ve ark. (2016)'nın deniz algleri ile yaptıkları incelemede, protein içeriğine ilişkin tüm araştırmaların %52'sinde, azot tayininin ardından 6.25'lik bir dönüşüm faktörü (azottan proteine) kullanılarak hesaplamaların yapıldığı belirtilmiştir. Oysa ki bu faktörün, çoğu gıdada ve özellikle bitki gıdalarında protein içeriğinin olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açtığını belgeleyen birçok çalışma vardır (Jones, 1931; Sosulski ve Imafidon, 1990; Mariotti ve ark., 2008). Gıda protein tayini için sıklıkla kullanılan dönüştürme faktörü 6.25, proteinlerdeki genel azot içeriğinin %16 olduğu ve gıdalardaki tüm azotun proteine bağlı olduğu varsayımına dayanmaktadır. Bununla birlikte, her aminoasitin kendine has nispi azot içeriğinden ve amino asit bileşimi gıda proteinleri arasında değiştiğinden, bunlar oldukça kaba varsayımlardır (Sosulski ve Imafidon, 1990). Ayrıca nitrat, amonyak, üre, nükleik asitler, serbest amino asitler, klorofiller ve alkaloidler gibi çok çeşitli başka bileşikler de azot içerir. Bu bileşiklere "protein olmayan azot" denir ve bunların nispi içerikleri genellikle sebzelerde hayvansal gıdalardan daha yüksektir (Sosulski ve Imafidon, 1990). Yıllar boyunca, 6.25'lik dönüştürme faktörünün çoğu durumda protein içeriğini fazla tahmin ettiği kanıtlanmıştır ve bu varyasyonları ayarlamak için türe özgü birkaç dönüştürme faktörü önerilmiştir (Jones, 1931; Sosulski ve Imafidon, 1990; Lourenço ve ark., 2002; Mariotti ve ark., 2008); Angell ve ark., 2016; Mæhre ve ark., 2018). *L. gibba*'da protein içeriğinin iki yöntemle (Kjeldahl ve bikinkoninik asit (BCA) yöntemi) karşılaştırıldığı çalışmada, Kjeldahl yöntemi ile %21.3, BCA yöntemi ile %20.5 ham protein hesaplanmıştır. Kjeldahl yöntemi ile elde edilen sonucun biraz fazla çıkması ve yöntemin daha basit olması nedeniyle, su mercimeğindeki protein içeriğini hesaplamak için 6.25 faktörünün yaygın olarak kullanılmasını haklı çıkardığı belirtilmiştir (Casal ve ark., 2000).

Farklı ortamlarda yetiştirilen su mercimeği *L. minor*'ün kuru maddede ham protein içeriğinin incelendiği bir araştırmada, su mercimeğinin sentetik N ortamında %28, atıksuda %25, yağmur suyunda %15 oranında protein içerdiği belirlenmiştir. Ham protein Kj-N faktörü olan 6,25 ile hesaplanmıştır. *L. minor*'ün TN içeriği Dumas ve Kjeldahl metodları kullanılarak karşılaştırıldığında ise, Kjeldahl azotunun CHN analizörü ile belirlenen toplam azottan anlamlı

derecede düşük olduğu tespit edilmiştir (Devlamynck ve ark., 2020). Bunun nedeni muhtemelen Dumas yıkımının, yanma aşamasında 1300°C sıcaklığa ulaştığı için Kjeldahl prosedürüyle karşılaştırıldığında organik azot bileşiklerini parçalamada biraz daha verimli olmasıdır.

Yapılan araştırmalar, Lemnaceae üyelerinin protein içeriğinin türe ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişebildiğini göstermektedir. Mevcut çalışmamızda farklı LED ışıklarda yetiştirilen *W. arrhiza*'nın protein içeriği, literatürde bildirilen diğer su mercimeği çeşitlerine (*Lemna* spp., *Spirodela polyrhiza*) benzer şekilde (Xu ve Shen, 2011; Nieuwland ve ark., 2021), hatta daha yüksek, kuru ağırlık bazında yaklaşık %35–%42 aralığında tespit edilmiştir. Farklı N-dönüşüm faktörleri kullanıldığında, *W. arrhiza*'nın ham protein içeriği; kırmızı ışıkta %33–42, mavi ışıkta %29–36, mor ışıkta %28–34, floresan ışıkta %21–24 aralığında hesaplanmıştır. Dolayısıyla *W. arrhiza*, diğer su mercimekleri içinde yüksek protein içeriğiyle dikkatleri üzerine çekmektedir. *Wolffia* spp. ile yapılan güncel araştırmalar, proteinin yanı sıra bu bitkinin gıda ve sağlık üzerinde oldukça etkili biyoaktif bileşenlere sahip olduğunu göstermiştir. Moleküler barkodlama ile tanımlanan *Wolffia* cinsine ait su mercimeklerinin 11 türünün tümü, insan beslenmesiyle ilgili bileşenler açısından araştırılmıştır (Appenroth ve ark., 2018). Modifiye Schenk-Hildebrandt medyumunda yetiştirilen ve dondurularak kurutulan *Wolffia* türlerinde toplam protein içeriğinin %20 ila %30 arasında değiştiği bildirilmiştir. WHO standartlarına göre, *Wolffia* türlerinde esansiyel amino asit içeriğinin okul öncesi çağındaki çocukların gereksinimlerine yakın veya daha yüksek olduğu, yağ içeriğinin düşük, ancak çoklu doymamış yağ asitleri fraksiyonunun toplam yağın %60'ının üzerinde olduğu ve çoğu türde omega 3 çoklu doymamış yağ asitleri içeriğinin omega 6 çoklu doymamış yağ asitlerinden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Bu veriler *Wolffia* türlerini insan sağlığı için fonksiyonel gıda kaynağı olarak üretmenin ve daha fazla araştırma yapmanın gerekli olduğunu göstermektedir.

Su mercimekleri (*Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*, *Wolffiella* ve *Wolffia*) ile yapılan araştırmalarda, yüksek protein içeriği ve amino asit spektrumunun kalitesinden dolayı bu bitkilerin birçok klonunun insan beslenmesi için uygun olduğu sonucuna varıldığı ifade edilmektedir (Appenroth ve ark., 2017; 2018). Yenilebilir bir su bitkisi olan *Wolffia globosa* su mercimeği (Mankai suyu; yüksek denetimli koşullar altında yetiştirilen su mercimeği), protein içeriği bakımından zengindir

(kuru maddenin >45%) ve dokuz temel ve altı koşullu amino asidin tamamını içermektedir (Zelicha ve ark., 2019). Son zamanlarda, insanlar arasında, *W. globosa*'daki temel amino asitlerin biyoyararlanımının, iyi bilinen hayvan (yumuşak peynir) ve bitki (bezelye) izo-protein kaynaklarına benzer olduğu ve bu bitkinin kaliteli proteininin yüksek olduğu vurgulanmıştır (Kaplan ve ark., 2019). Ayrıca sıçan modellerinde *W. globosa*'dan türetilen demirin biyoyararlı olduğu ve demir eksikliği anemisinin tedavisinde etkili olduğu bulunmuştur (Yaskolka Meir ve ark., 2019). Yeşil Akdeniz diyetinin kardiyometabolik risk üzerine etkisinin incelendiği randomize bir çalışmada, donmuş küpler şeklinde günde 100 g *W. globosa* akşam yemeğinde hayvansal proteinin yerine yeşil bitki bazlı bir protein içeceği olarak verilmiştir. Düzenli Mankai tüketiminin kısa süreli glikoz toleransını iyileştirdiği ve ayrıca insüline hassasiyette uzun vadeli iyileşmeyi teşvik ettiği belirtilmiştir. Çalışma sonucunda ceviz, yeşil çay ve Mankai ile desteklenmiş yeşil Akdeniz diyetinin yararlı kardiyometabolik etkileri artırabileceği ifade edilmiştir (Tsaban ve ark., 2021). Başka bir randomize çalışmada, *W. globosa* Mankai su mercimeğinin, potansiyel faydalı postprandiyal glisemik etkilerinin olduğu, yoğurtla karşılaştırıldığında daha düşük bir postprandiyal glikoz zirvesi ortaya çıkardığı ve gelişmekte olan bir alternatif bitki protein kaynağı olarak hizmet edebileceği belirtilmiştir (Zelicha ve ark., 2019).

Sonuç

Dünyanın en küçük çiçekli bitkisi olan köksüz su mercimeği *Wolffia*'nın, insan gıdası olarak değerlendirilebilecek ve çevresel iyileştirme için sürdürülebilir bir yaklaşım yaratmada muazzam bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Bu bitki hızlı üreme oranına sahip olduğu için, Türkiye gibi subtropikal bölgelerde de kontrollü sera koşullarında, LED ışıklar kullanılarak biyokütle elde edilmesi nispeten kolay olabilir. Aynı zamanda, çeşitli yararlı biyoaktif bileşikler elde etmek için kolayca hasat edilip işlenebilir. Mevcut fitokomponentleri ve gıda değeriyle, özellikle yüksek protein içeriği ve temel amino asitleriyle, küresel iklim krizi kötüleştikçe, geleneksel mahsullere alternatif bir ürün olarak gelecekte bitki bazlı protein pazarında hızla yer alması beklenmektedir.

LED ışıklar altında köksüz su mercimeği yetiştirerek, bitkinin hızlı çoğalması ve fitokomponentlerinin artırılması sağlanabilir. Bulgular *W. arrhiza*'nın farklı dalga boyu ve yoğunluktaki LED ışıklar altında yetiştirildiğinde, bitkideki TN

miktarının dolayısıyla protein içeriğinin değiştiğini göstermiştir. Bu çalışmalar, LED ışıkların bitki yetiştirme teknolojisinde kullanımının, bitki büyümesi ve besin içeriği açısından faydalı olabileceğini göstermektedir. Farklı ışık kombinasyonları hazırlanarak *W. arrhiza*'nın protein içeriği daha da artırılabilir. Ancak, köksüz su mercimeği bitkisinin protein içeriğinin hangi LED spektrumunda daha yüksek olduğunu belirlemek için yapılmış bilimsel çalışmaların sayısı çok yetersizdir. Bu nedenle daha fazla araştırmaya ve sonuçların kesin olması için daha fazla veriye ihtiyaç vardır. Yine, yüksek renk doygunluğuna sahip, gerçek renkleri sunabilen, normal LED'lerde gözlenen aşırı mavi ışınımını filtrelemesi, pürüzsüz ve kesintisiz olarak güneş ışığına daha yakın bir aydınlatma sağlaması gibi avantajlarından dolayı full spectrum LED teknolojisinin de denenerek bitkinin protein içeriğinin ve fitokimyasallarının değişimi izlenebilir.

Bitkilerde protein miktarının belirlenmesine yönelik birçok metot bulunmaktadır ve bu metotların hepsinin avantaj ve dezavantajları vardır. Dumas metodunun Kjeldahl metoduna kıyasla ağır kimyasal maddelerle çalışmaya ihtiyaç duyulmaması, sıvı, katı veya yarı katı haldeki her türlü gıda maddesinde kolaylıkla uygulanabilir ve çok kısa bir sürede sonuç alınabilir olması avantajlı yönleridir. Fakat Dumas metodunun gıda içindeki proteinlerin dışındaki diğer tüm N formlarına da duyarlı olması dezavantajıdır. Bu nedenle, çalışmamızda su mercimeği proteini için "ham protein" ifadesi kullanılmıştır. Doğru karşılaştırma yapabilmek için analitik yöntemin doğru seçimi önemlidir. Bu çalışmada TN analizine dayalı protein tayininde, türe özgü N-protein dönüşüm faktörleri kullanıldığında veya kullanılmadığında farklı sonuçlar elde edildiği, LED ışıkların protein içeriğini artırdığı ve en yüksek proteinin kırmızı LED ışıkta yetiştirilen *W. arrhiza*'da olduğu sonucuna varılmıştır.

Hayvansal kaynaklı protein üretiminin birçok ekonomik, sağlık ve çevresel dezavantajı vardır. Azalan doğal kaynaklar ve artan dünya nüfusu nedeniyle, hayvansal protein talebini sadece geleneksel yöntemlerle karşılamak zordur. En pahalı proteinler hayvansal kaynaklı olanlardır. Dünya çapında et fiyatları yükseldikçe, alternatif proteinlerin insan diyetine sistematik olarak dahil edilmesi konusu daha da acil hale gelmektedir. Bu nedenle su mercimeği proteini çevre dostu, sürdürülebilir ve alternatif bitki proteini kaynağı gibi görünmektedir. Su mercimekleri, özellikle *Wolffia* türleri, sahip olduğu nutrasötik ve farmasötik içeriğiyle insan gıdası olarak umut vericidir ve ülke ekonomisine katma değerli

ürünler üretme potansiyeline sahiptir. *Wolffia*, üzerinde daha fazla bilimsel araştırmalar yapmaya değer bir su bitkisidir.

Etik Standartlar ile Uyumluluk

Çıkar çatışması: Yazarlar herhangi bir çıkar çatışmasının olmadığını beyan eder.

Etik kurul izni: Araştırma niteliği bakımından etik izin gerektirmemektedir.

Finansal destek: Bu araştırma, Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: B-2210.

Teşekkür: Türü tanımlayan ve doğal ortamdan köksüz su mercimeği örneklemesinde yardımcı olan Dr. Halim TOPALDEMİR'e teşekkür ederiz.

Açıklama: -

Kaynaklar

Angell, A.R., Mata, L., de Nys, R., Paul, N.A. (2016). The protein content of seaweeds: A universal nitrogen-to-protein conversion factor of five. *Journal of Applied Phycology*, 28, 511–524.

<https://doi.org/10.1007/s10811-015-0650-1>

Appenroth, K.J., Sree, K. S., Bog, M., Ecker, J., Seeliger, C., Böhm, V., . . . Tolzin-Banasch, K. (2018). Nutritional value of the duckweed species of the genus *Wolffia* (Lemnaceae) as human food. *Frontiers in Chemistry*, 6, 483. <https://doi.org/10.3389/fchem.2018.00483>

Arslan Günal, S., Taş, B. (2022). Uzay çalışmalarında biyorejeneratif yaşam destek sistemleri için potansiyel bir tür: Dünyanın en küçük spermatofiti, köksüz su mercimeği (*Wolffia arrhiza*). International Scientific Research Congress Dedicated to the 30th Anniversary of Baku Eurasia University, Proceedings Book, 305–316.

Bog, M., Appenroth, K.J., Sree, K.S. (2019). Duckweed (Lemnaceae): Its molecular taxonomy. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 117.

<https://doi.org/10.3389/fsufs.2019.00117>

Bog, M., Sree, K.S., Fuchs, J., Hoang, P.T., Schubert, I., Kuever, J., . . . Appenroth, K.J. (2020). A taxonomic revision of Lemna sect. Uninerves (Lemnaceae). *Taxon*, 69(1), 56–66.

<https://doi.org/10.1002/tax.12188>

Casal, J., Vermaat, J., Wiegman, F. (2000). A test of two methods for plant protein determination using duckweed. *Aquatic Botany*, 67(1), 61–67.

[https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(99\)00093-5](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(99)00093-5)

Cui, W., Cheng, J. (2015). Growing duckweed for biofuel production: A review. *Plant Biology*, 17, 16–23.

<https://doi.org/10.1111/plb.12216>

Daun, J.K., DeClercq, D.R. (1994). Comparison of combustion and Kjeldahl methods for determination of nitrogen in oilseeds. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 71, 1069–1072.

<https://doi.org/10.1007/BF02675898>

Devlamynck, R., de Souza, M.F., Bog, M., Leenknecht, J., Eeckhout, M., Meers, E. (2020). Effect of the growth medium composition on nitrate accumulation in the novel protein crop *Lemna minor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 206, 111380.

<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111380>

Diwan, F. (2023). Duckweed and its broad-spectrum applications. Climate Survival Solutions, Inc., and Climate Survival Solutions Pvt. Ltd., 1–18.

Etheridge, R., Pesti, G., Foster, E. (1998). A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. *Animal Feed Science and Technology*, 73(1-2), 21–28.

[https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00136-9](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00136-9)

Hoffland, E., Dicke, M., Van Tintelen, W., Dijkman, H., Van Beusichem, M.L. (2000). Nitrogen availability and defense of tomato against two-spotted spider mite. *Journal of Chemical Ecology*, 26, 2697–2711.

<https://doi.org/10.1023/A:1026477423988>

Jones, D.B. (1931). Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins. Circular No. 18, US Department of Agriculture, Washington, D.C.

Kaplan, A., Zelicha, H., Tsaban, G., Meir, A.Y., Rinott, E., Kovsky, J., . . . Shai, I. (2019). Protein bioavailability of *Wolffia globosa* duckweed, a novel aquatic plant—a randomized controlled trial. *Clinical Nutrition*, 38(6), 2576–2582.

<https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.12.009>

- Kjeldahl, J. (1883).** Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. *Zeitschrift für analytische Chemie*, 22(1), 366–382.
<https://doi.org/10.1007/BF01338151>
- Landolt, E., Kandeler, R. (1987).** The family of Lemnaceae—a monographic study, 2. Biosystematic Investigations in the Family of Duckweeds (Lemnaceae). Veröffentlichungen des Geobotanischen Institutes der ETH. Stiftung Rübli, Zurich.
- Lourenço, S.O., Barbarino, E., De-Paula, J.C., Pereira, L.O., Marquez, U.M.L. (2002).** Amino acid composition, protein content and calculation of nitrogen-to-protein conversion factors for 19 tropical seaweeds. *Phycological Research*, 50(3), 233–241.
<https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2002.00278.x>
- Mæhre, H.K., Dalheim, L., Edvinsen, G.K., Elvevoll, E.O., Jensen, I.J. (2018).** Protein determination—method matters. *Foods*, 7(1), 5.
<https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- Mariotti, F., Tomé, D., Mirand, P.P. (2008).** Converting nitrogen into protein—beyond 6.25 and Jones' factors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(2), 177–184.
<https://doi.org/10.1080/10408390701279749>
- Muñoz-Huerta, R.F., Guevara-Gonzalez, R.G., Contreras-Medina, L.M., Torres-Pacheco, I., Prado-Olivarez, J., Ocampo-Velazquez, R.V. (2013).** A review of methods for sensing the nitrogen status in plants: Advantages, disadvantages and recent advances. *Sensors*, 13(8), 10823–10843.
<https://doi.org/10.3390/s130810823>
- Nieuwland, M., Geerdink, P., Engelen-Smit, N.P., Van Der Meer, I.M., America, A.H., Mes, J.J., . . . Mulder, W.J. (2021).** Isolation and gelling properties of duckweed protein concentrate. *ACS Food Science & Technology*, 1(5), 908–916.
<https://doi.org/10.1021/acscfoodscitech.1c00009>
- Paolacci, S., Harrison, S., Jansen, M.A. (2018).** The invasive duckweed *Lemna minuta* Kunth displays a different light utilisation strategy than native *Lemna minor* Linnaeus. *Aquatic Botany*, 146, 8–14.
<https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2018.01.002>
- Petersen, F., Demann, J., Restemeyer, D., Olf, H.W., Westendarp, H., Appenroth, K.J., Ulbrich, A. (2022).** Influence of light intensity and spectrum on duckweed growth and proteins in a small-scale, re-circulating indoor vertical farm. *Plants*, 11(8), 1010.
<https://doi.org/10.3390/plants11081010>
- Sinfield, J.V., Fagerman, D., Colic, O. (2010).** Evaluation of sensing technologies for on-the-go detection of macro-nutrients in cultivated soils. *Computers and Electronics in Agriculture*, 70(1), 1–18.
<https://doi.org/10.1016/j.compag.2009.09.017>
- Sosulski, F.W., Imafidon, G.I. (1990).** Amino acid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(6), 1351–1356.
<https://doi.org/10.1021/jf00096a011>
- Sree, K.S., Sudakaran, S., Appenroth, K.J. (2015).** How fast can angiosperms grow? Species and clonal diversity of growth rates in the genus *Wolffia* (Lemnaceae). *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(10).
<https://doi.org/10.1007/s11738-015-1951-3>
- Stewart, J.J., Adams III, W.W., Escobar, C.M., López-Pozo, M., Demmig-Adams, B. (2020).** Growth and essential carotenoid micronutrients in *Lemna gibba* as a function of growth light intensity. *Frontiers in Plant Science*, 11, 480.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00480>
- Taş, B., Şengüllendi, F.T. (2022a).** Algal biyoteknoloji: Besleyici ve fonksiyonel gıdalar. Ziraat, Orman ve Su Ürünleri Alanında Yeni Trendler, Duvar Yayınları; ISBN: 978-625-8261-57-8, 125–149.
- Taş, B., Şengüllendi, F.T. (2022b).** Effect of different led lights on the element content of rootless duckweed. 7th Asia Pacific International Modern Sciences Congress, November 4-5, 2022/Jakarta, Indonesia, VII - Proceedings Book, 163–173.
- Taş, B., Topaldemir, H. (2021).** Assessment of aquatic plants in the Miliç coastal wetland (Terme, Samsun, Turkey). *Review of Hydrobiology*, 14(1-2), 1–23.
- Thompson, M., Owen, L., Wilkinson, K., Wood, R., Damant, A. (2002).** A comparison of the Kjeldahl and Dumas methods for the determination of protein in foods, using data from a proficiency testing scheme. *Analyst*, 127(12), 1666–1668.
<https://doi.org/10.1039/b208973b>

- Tippery, N.P., Les, D.H. (2020).** Tiny plants with enormous potential: Phylogeny and evolution of duckweeds. In *The Duckweed Genomes* (pp. 19–38): Springer.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-11045-1_2
- Tsaban, G., Meir, A.Y., Rinott, E., Zelicha, H., Kaplan, A., Shalev, A., ... Shai, I. (2021).** The effect of green Mediterranean diet on cardiometabolic risk; a randomised controlled trial. *Heart*, 107(13), 1054–1061.
<https://doi.org/10.1136/heartjnl-2020-317802>
- van Dijk, M., Morley, T., Rau, M.L., Saghai, Y. (2021).** A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494–501.
<https://doi.org/10.1038/s43016-021-00322-9>
- Wedge, R.M., Burris, J.E. (1982).** Effects of light and temperature on duckweed photosynthesis. *Aquatic Botany*, 13, 133–140.
[https://doi.org/10.1016/0304-3770\(82\)90047-X](https://doi.org/10.1016/0304-3770(82)90047-X)
- Wiles, P.G., Gray, I.K., Kissling, R.C. (1998).** Routine analysis of proteins by Kjeldahl and Dumas methods: review and interlaboratory study using dairy products. *Journal of AOAC International*, 81(3), 620–632.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/81.3.620>
- WHO (World Health Organization) (1970).** Requirements of ascorbic acid, vitamin D, vitamin B-12, folate, and iron. World Health Organization Technical Report, 1–452.
- Xu, J., Cui, W., Cheng, J.J., Stomp, A.M. (2011).** Production of high-starch duckweed and its conversion to bioethanol. *Biosystems Engineering*, 110(2), 67–72.
<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2011.06.007>
- Xu, J., Shen, G. (2011).** Growing duckweed in swine wastewater for nutrient recovery and biomass production. *Bioresource Technology*, 102(2), 848–853.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.09.003>
- Xu, J., Shen, Y., Zheng, Y., Smith, G., Sun, X.S., Wang, D., ... Li, Y. (2022).** Duckweed (Lemnaceae) for potentially nutritious human food: A review. *Food Reviews International*, 1–15.
<https://doi.org/10.1080/87559129.2021.2012800>
- Yaskolka Meir, A., Tsaban, G., Zelicha, H., Rinott, E., Kaplan, A., Youngster, I., ... Shai, I. (2019).** A green-Mediterranean diet, supplemented with *Mankai duckweed*, preserves iron-homeostasis in humans and is efficient in reversal of anemia in rats. *The Journal of Nutrition*, 149(6), 1004–1011.
<https://doi.org/10.1093/jn/nxy321>
- Yin, Y., Yu, C., Yu, L., Zhao, J., Sun, C., Ma, Y., & Zhou, G. (2015).** The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 187, 84–90.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.097>
- Zelicha, H., Kaplan, A., Yaskolka Meir, A., Tsaban, G., Rinott, E., Shelef, I., ... Shai, I. (2019).** The effect of *Wolffia globosa* Mankai, a green aquatic plant, on postprandial glycemic response: a randomized crossover controlled trial. *Diabetes Care*, 42(7), 1162–1169.
<https://doi.org/10.2337/dc18-2319>
- Ziegler, P., Adelman, K., Zimmer, S., Schmidt, C., Appenroth, K.J. (2015).** Relative in vitro growth rates of duckweeds (Lemnaceae)-the most rapidly growing higher plants. *Plant Biology*, 17, 33–41.
<https://doi.org/10.1111/plb.12184>



Assessing eutrophication vulnerability in Köyceğiz Lake: Climate change and basin developments impact trophic status

Elif ATASOY AYTİŞ¹, Elif SOYER¹, Ali ERTÜRK²

Cite this article as:

Atasoy Aytış, E., Soyer, E., Ertürk, A. (2023). Assessing eutrophication vulnerability in Köyceğiz Lake: Climate change and basin developments impact trophic status. *Aquatic Research*, 6(3), 201-226. <https://doi.org/10.3153/AR23020>

¹ Marmara University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, Istanbul, Türkiye

² Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Department of Freshwater Resources Management, Istanbul, Türkiye

ORCID IDs of the author(s):

E.A.A. 0000-0001-9097-181X

E.S. 0000-0003-1400-5198

A.E. 0000-0002-3532-2961

ABSTRACT

This study investigated the potential for eutrophication in Köyceğiz Lake, one of Türkiye's most important and sensitive ecosystems. We developed a simple steady-state eutrophication model system using a phosphorus mass balance model for the lake, utilising open-access data from the literature as input. The model was calibrated and validated, with a specific focus on the eutrophic state of Köyceğiz Lake, and it demonstrated good responsiveness to future predictions. Our findings revealed that both the epilimnion (TSI (TP) 56) and hypolimnion (TSI (TP) 70) of Köyceğiz Lake are eutrophic. Considering climate change impacts and developments in the basin, we conducted projections to determine the lake's trophic status between 2035 and 2095. By 2035, a 65% decrease in freshwater inflow and a 4% increase in total TP load will lead to a hypertrophic status, which will persist and gradually worsen to a severe trophic situation by 2095.

Keywords: Climate change, Diffuse pollution, Eutrophication, Köyceğiz Lake, Phosphorus

Submitted: 16.06.2023

Revision requested: 26.06.2023

Last revision received: 04.07.2023

Accepted: 10.07.2023

Published online: 12.07.2023

Correspondence:

Elif ATASOY AYTİŞ

E-mail: atasov.e@gmail.com



© 2023 The Author(s)

Available online at

<http://aquatres.scientificwebjournals.com>

Introduction

The surface waters face two significant challenges: (i) the impact of climate change and (ii) the inability to control diffuse pollution sources effectively. Climate change has emerged as a crucial factor affecting freshwater resources over the past three decades, with meteorological and climatological events playing a prominent role (Şen, 2020). Despite the constancy of global water resources within the water cycle, managing water quantity and quality has become increasingly difficult in numerous locations due to changes in precipitation patterns, surface runoff, and groundwater recharge worldwide (Görgüner et al., 2019). According to the IPCC Sixth Assessment Report (IPCC, 2022), the current 1.1°C warmer world has led to more frequent heatwaves and droughts, with projected negative impacts on southern regions of Europe. In the Western Mediterranean Region of Türkiye, temperatures have risen, surpassing the country's average, accompanied by a decrease in annual and winter precipitation since the 1960s. Consequently, the adverse effects of climate change on freshwater resources and the water budget in this region are inevitable (Şen, 2013; Ertürk et al., 2014).

In the past two decades, the effectiveness of legislation and regulations in addressing point source pollution in surface water systems has increased, resulting in faster and easier mitigation measures. However, to further enhance water quality and ensure compliance with water quality regulations, it is crucial to identify and measure the sources of diffuse pollution (DEFRA, 2002). Agricultural-derived nutrient pollution is the most significant factor in water quality degradation in the USA (Buckley and Carney, 2013). While there have been recent improvements in water quality in European Union countries, many aquatic ecosystems remain at risk of eutrophication due to excessive concentrations of nitrogen (N) and phosphorus (P) (Udias et al., 2016). According to the National Lakes Assessment Report, 20% of the 50,000 lakes examined are impacted by nitrogen and phosphorus pollution (NAO, 2010).

The Turkish economy is primarily based on agriculture and livestock activities. Diffuse source pollution accounts for more than half of the total pollution loads, leading to eutrophication issues in surface waters (Ayaz et al., 2021; 2022).

This study aims to initiate efforts to establish a simple eutrophication model system for a natural lake. In this context,

our contributions can be summarised as follows: (i) illustrating the lake's responses to future predictions and (ii) creating a valuable tool for addressing various nutrient management and climate change simulations. We have selected the Köyceğiz Lake basin as our case study area to achieve this. Köyceğiz Lake, located in the western Mediterranean region of Türkiye, is part of a complex lagoon system known as the Köyceğiz-Dalyan Lagoon. This system is predominantly composed of brackish water. Considering this characteristic and the lake's classification as a meromictic lake (Kazancı et al., 1992; Bayarı et al., 1995), investigating the lake presents an intriguing task. In recent decades, numerous studies have been conducted on lagoon systems (Gürel, 2000; Ertürk, 2002; Tanık et al., 2005; Ekdal, 2008; Balloch, 2009; Ertürk et al., 2014; Güzel, 2020). Recently, Keskin (2019) conducted a study on the eutrophication risk in a lagoon system and determined that total phosphorus (TP) is the limiting nutrient in Köyceğiz Lake. Another study by Taşeli (2017), based on a four-year monthly monitoring scheme from 2008 to 2011, calculated TN/TP ratios greater than 20, leading to the conclusion that TP is the limiting nutrient in the lake according to the Vollenweider model (Vollenweider, 1976). The factors influencing the limiting nutrients in the lake include the loads transported through the basin by the streams and the nutrient content of the Eastern Mediterranean Sea (Levantine Basin). The Eastern Mediterranean Sea exhibits a TN/TP mass ratio ranging from 25 to 28, resulting in severe phosphorus limitation for primary productivity in the Eastern basin (Krom et al., 1991; Kress and Herut, 2001; Krom et al., 2005; Koçak et al., 2010; Lazzari et al., 2016). The TN and TP loads calculated by Tanık et al. (2005) indicate an approximate TN to TP load ratio of 13, further confirming that phosphorus is the limiting nutrient in Köyceğiz Lake.

These studies and several others not mentioned here clearly indicate that no ecological model has been developed for Köyceğiz Lake, the largest waterbody in the system. Our model aims to examine the eutrophication status of the lake and employs a mechanistic modelling approach.

Material and Methods

Site Description

Köyceğiz Lake, which is part of the Dalyan Lagoon system, is a natural, meromictic lake located on the southwest coast of

Türkiye, adjacent to the Mediterranean Sea (Kazancı et al., 1992; Bayarı et al., 1995). The key morphological parameters describing the lake are presented in Table 1. It is a moderately-sized lake, measuring 13 km in length, 2-6 km in width, with an average depth of 25 m. The lake has a surface area of 55 km². Based on salinity profile analysis, the boundary between the upper layer (epilimnion) and lower layer (hypolimnion) was determined at a depth of 6.5 m (Ertürk, 2002). Monitoring studies in the lake indicate that the average salinity of the epilimnion and hypolimnion is approximately 3 ppt and 10 ppt, respectively (Gürel, 2000; Özgül, 2015; Karaca, 2020).

The lake collects surface water from 1011 km² (Figure 1-a). The principal streams that discharge into the lake are Namnam Creek, Yuvarlak Creek, and Kargıcak Creek, with drainage areas of 604 km², 105 km², and 43 km², respectively.

According to TurkStat (a) (2018), the basin's population was 37,618 people. The basin encompasses three districts: Köyceğiz, Ula, and Ortaca (Figure 1-b). Among these, 86% of the population of the Köyceğiz district and 25% of the Ula district are located within the basin. In terms of area, the Köyceğiz district accounts for 63% of the basin, while the Ula district comprises 27%. The remaining part is represented by Menteşe (5%) and Ortaca (4%) districts, which have a relatively small area.

The land use distribution in the basin consists of 52% forest, 30% meadow and pasture, 17% agricultural areas, and 1% other areas, including settlements (CORINE, 2018) (Figure 2).

Due to its unique and significant ecosystem with a high species diversity, the lake and its basin were designated as a Special Environmental Protection Area (SEPA) by the Turkish Government in 1988.

The basin experiences a typical Mediterranean climate with hot and dry summers and mild and rainy winters.

Hydrological Investigation

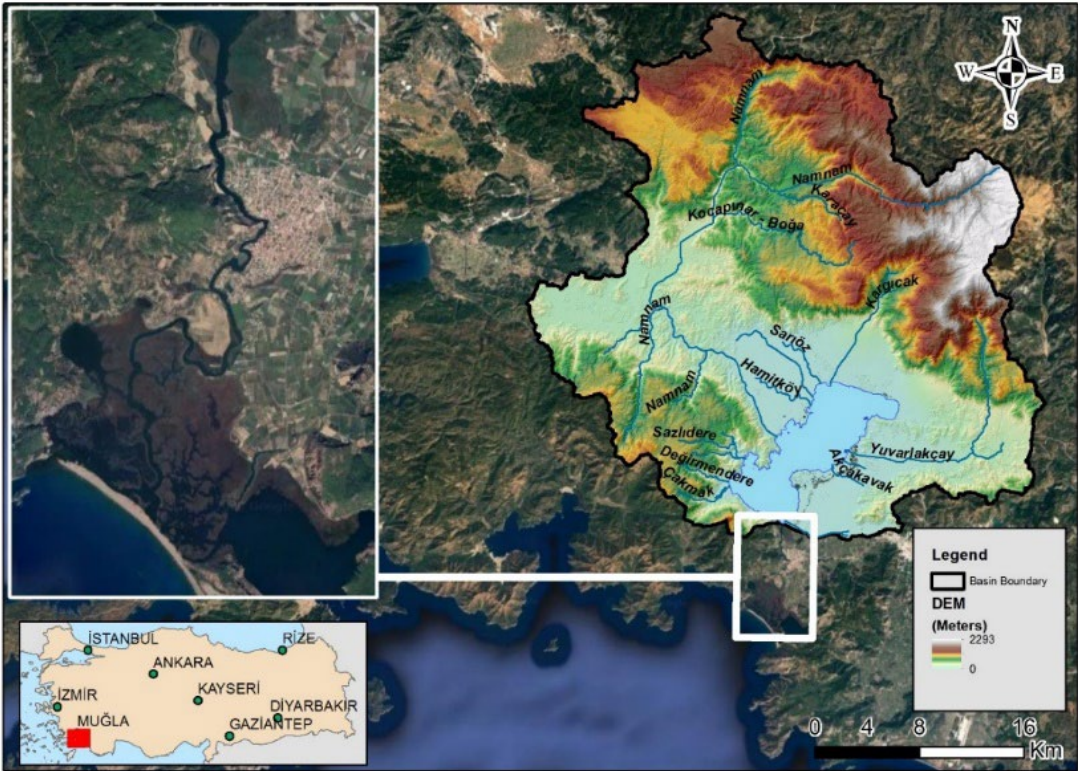
The lake's water budget, crucial for modelling studies, was obtained from a previous study by Ertürk et al. (2014). In that study, the anticipated impact of climate change on the watershed was quantified at the hydrological process level. A hydrological model was developed using SWAT, which was calibrated and validated. Over the years, the average total flow derived from this hydrological model was used to determine the total surface runoff entering the lake from the basin. The calculated amount of water reaching the lake from the basin was 23.63 m³ s⁻¹. Estimations of future freshwater inflow were performed using the basin's water yield trend equation (mm/yr), as provided in Ertürk et al. (2014).

Estimation of Phosphorus Loads

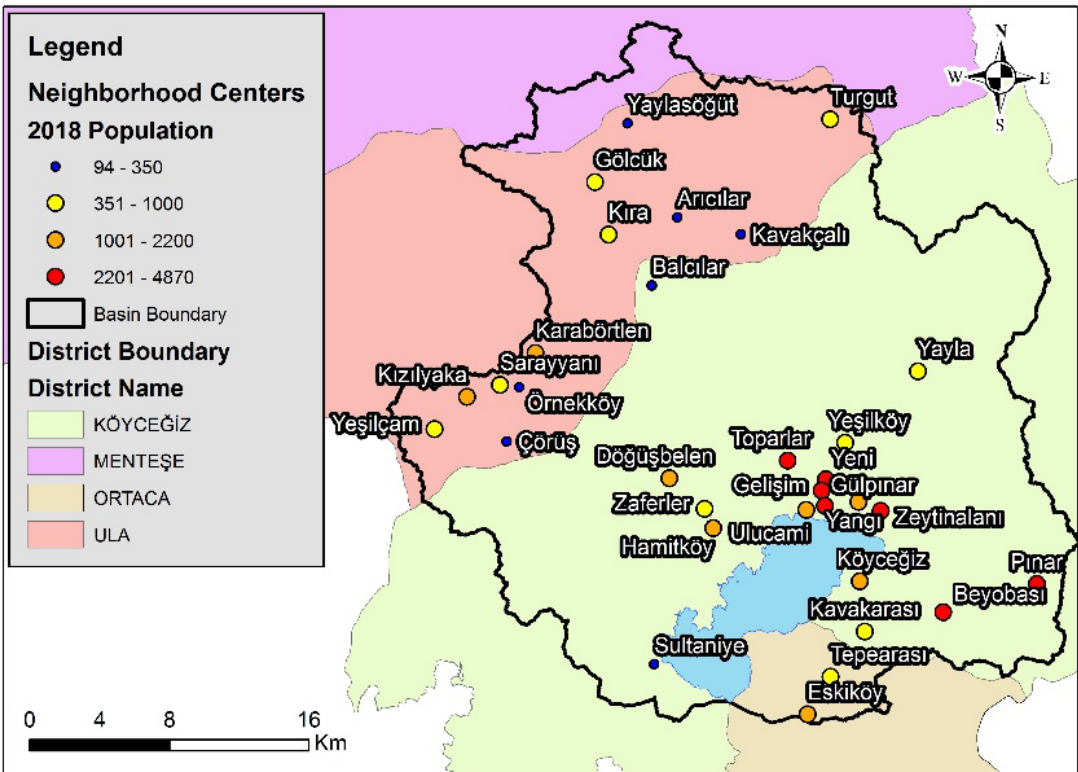
Given that TP is the limiting nutrient in the lake (Taşeli, 2017; Keskin, 2019), all calculations were explicitly conducted for TP. The calculations of TP pollution loads were performed for the years 1990, 2000, 2006, 2012, and 2018, corresponding to the availability of CORINE land cover data. These calculations aimed to illustrate past trends and determine potential future scenarios without any nutrient load mitigation measures.

Table 1. Characterising parameters of the lake

Parameter (unit)	Abbreviation	Köyceğiz Lake
Area (km ²)	A	55
Volume of epilimnion (10 ⁶ m ³)	V _E	356.6
Volume of hypolimnion (10 ⁶ m ³)	V _H	389.6
Height of epilimnion (m)	H _E	6.5
Height of hypolimnion (m)	H _H	11.1
The salinity of epilimnion (ppt)	S _E	3
Salinity of hypolimnion (ppt)	S _H	10



(a)



(b)

Figure 1 Geographic map of the basin (a) administrative borders of the basin (b)

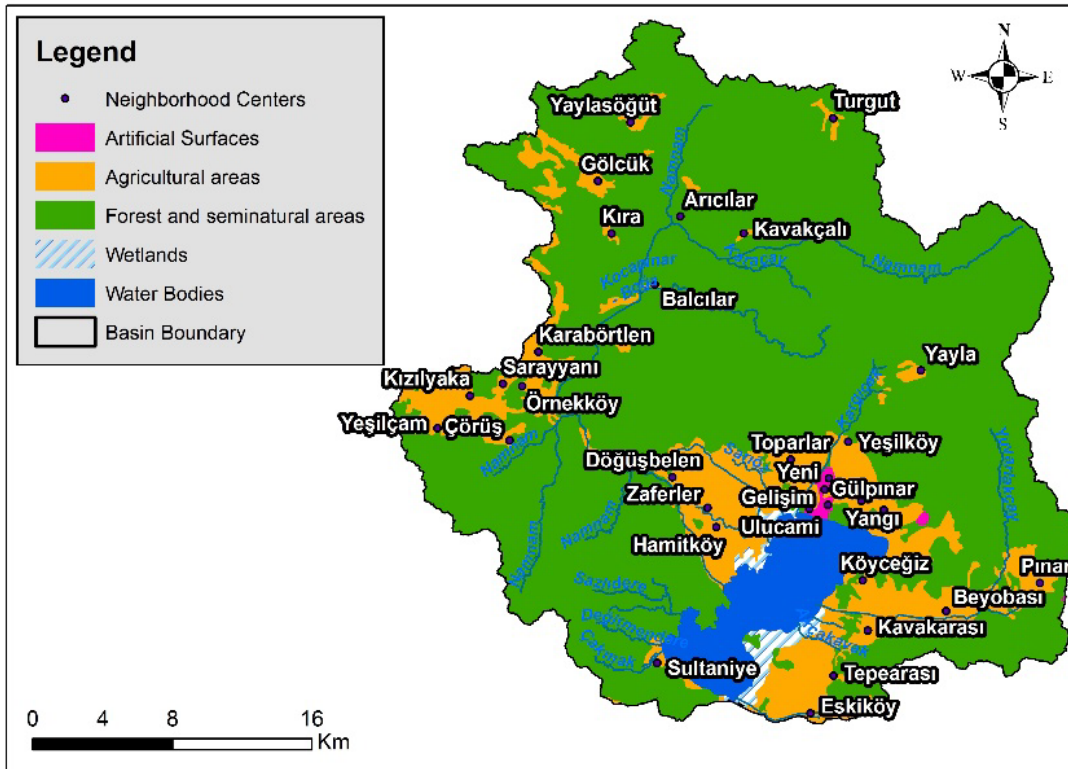


Figure 2. CORINE 2018 land cover map of the basin

Since 2002, a municipal wastewater treatment plant with nutrient (nitrogen and phosphorus) removal has been operational, treating wastewater from 95% of the population. Additionally, there have been no industrial discharges in the basin. It can be assumed that nutrient emissions primarily originate from diffuse sources. Although the wastewater treatment plants effectively treat nutrients, a certain amount of TP load is still discharged into the lake through the effluent. The TP input from the municipal wastewater treatment plant was calculated considering the TP removal performance of the plant, the basin's population, the annual volume of treated wastewater, and the treatment plant's capacity.

In this study, the primary diffuse pollutant sources in the basin were classified as land use, agricultural activities (fertiliser usage), and livestock activities (Figure 3). The calculations were conducted by considering the unit loads and emissions of TP obtained from the literature (Table 2). Climatic conditions, soil characteristics, population trends, agricultural practices, and cultural factors significantly influence the unit loads. The unit loads for each pollution source were selected based on studies conducted in Türkiye (Gürel et al., 2011; Ayaz et al., 2013; MoAF, 2018).

The land use distribution and the respective area values for each land use activity were determined using the CORINE land cover data. To estimate the loads originating from land usage (natural activities), the following unit loads were utilised: 0.05 kg TP/ha-year for forests, 0.1 kg TP/ha-year for meadows, 0.5 kg TP/ha-year for urban areas, and 0.90 kg TP/ha-year for rural areas (Gürel et al., 2011).

The yearly chemical fertiliser application data, measured in kg P_2O_5 /ha-year for different crop types, were obtained from the Fertilizer Recommendation Guideline published by the Ministry of Agriculture and Forestry (MoAF, 2018). These data were then evaluated with the corresponding years' CORINE land cover data.

The number of livestock, including bovines and ovines, was acquired from TurkStat (b) between 2004 and 2018. The animal unit loads were multiplied by the weight of the animals to estimate the animal-based TP loads. For bovines, a unit load of 18 kg TP/animal-year was used, while for ovines, a unit load of 1 kg TP/animal-year was applied (Ayaz et al., 2013).

Regarding fertiliser application and livestock-based loads, losses through leaching and surface runoff typically range from 0.5% to 5% of the land-based TP amount, depending on meteorological, climatic, geographical, and geological conditions (Gürel et al., 2011). Since a 2.5% TP loss rate was determined to be suitable for Türkiye (Ayaz et al., 2017), this ratio was utilised to calculate the TP amount reaching the receiving water in this study.

To estimate the future point and diffuse TP loads, it was assumed that the land use distribution and crop pattern would remain unchanged in the basin. However, the logistic curve method was employed to project the population, number of

bovine livestock, and number of ovine livestock in the basin (for further details, refer to **Appendix A**).

Travel Time in The Streams

The movement and transformation of nutrients during stream transport must be considered, as nutrients are carried from land-based activities to lakes through streams. The travel time of nutrients in the streams was calculated to assess these conditions. To accomplish this, the Manning formula was utilised to formulate equations for the travel time of streams. The equation for stream travel time, along with its derivation, can be found in **Appendix B**. Consequently, the travel time (in hours) of nutrients along the streams was determined.

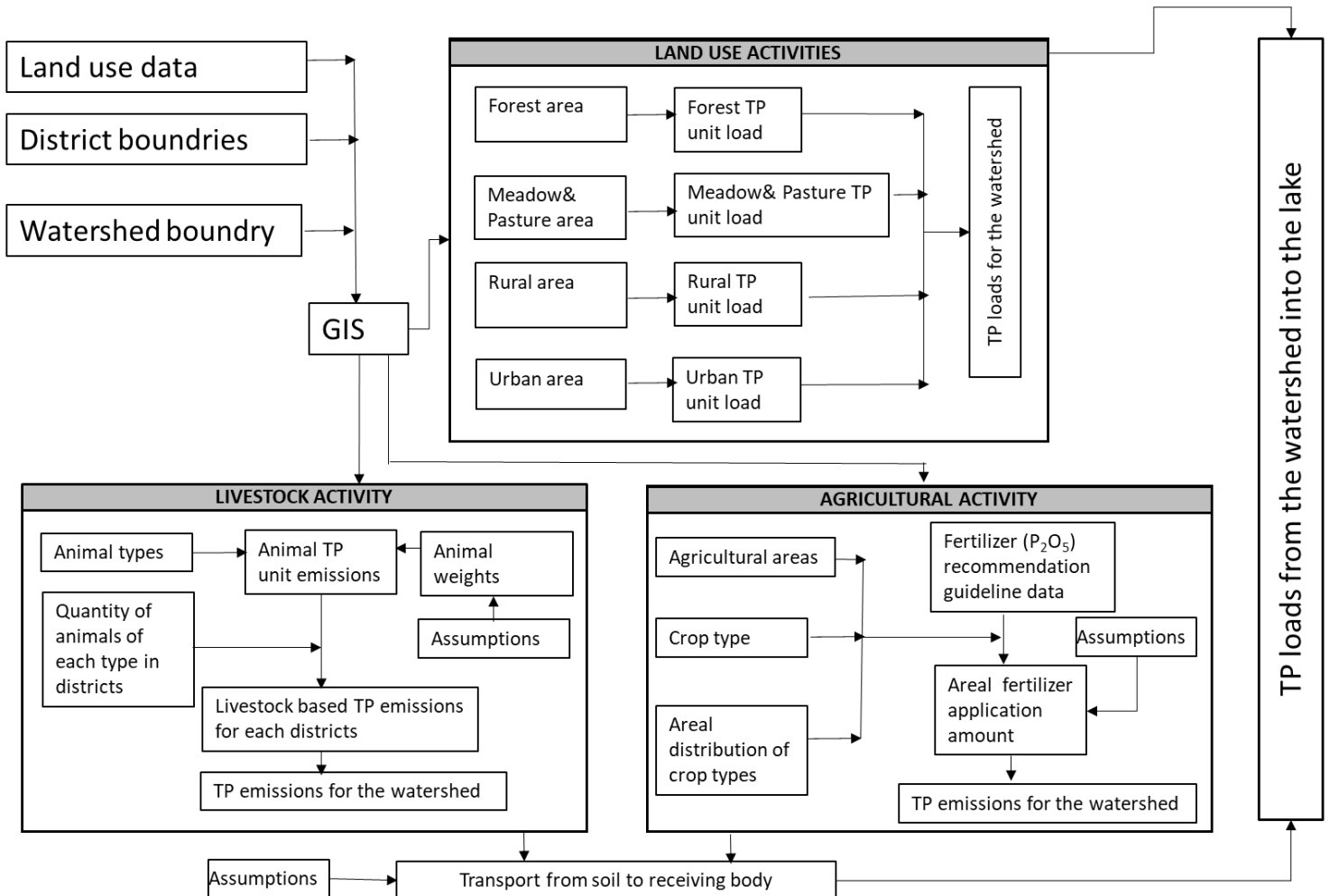


Figure 3. Methodology for estimation of diffuse TP pollution load

Table 2. Unit loads and emissions for estimation of diffuse TP pollution load

Pollution Source Activity	Unit Diffuse TP Loads	Unit Diffuse TP Emissions	From Soil to Receiving Body (Ayaz et al.2017)	Data Source	Reference
Land Use	TP (kg/ha-year)				
Forest	0.05				
Meadow and Pasture	0.1		-	CORINE	Gürel et al. 2011
Rural	0.90				
Urban	0.50				
Livestock		TP (kg/animal-year)			
Bovine (≈500 kg)		18	2.5 %	TurkStat	Ayaz et al., 2013
Ovine (≈45 kg)		1			
Agriculture		P₂O₅ (kg P₂O₅/ha-year)*			
Olive grove		90			
Orchard- irrigated		120	2.5%	CORINE	MoAF, 2018
Orchard-not irrigated		80			
Crops-not irrigated		88			
Crops-irrigated		100			

*43% of P₂O₅ amount is TP

The Lake Eutrophication Model System

The article aims to assess the trophic level of Köyceğiz Lake in its current state and examine the potential changes in trophic level over the next 10 years based on applied scenarios. However, our objective is not to examine the annual variations in the lake's condition. In Türkiye, the trophic level of a lake, mainly whether it is eutrophic or not, is determined according to the Carlson Index, as specified in the regulations (MoAF, 2021). To evaluate the impact of the applied scenarios on the lake, it is necessary to assess the changes in the Carlson Index. The Carlson Index calculates based on the average annual concentration values (Carlson 1977, Carlson and Simpson 1996) without making a seasonal distinction. Additionally, Köyceğiz Lake is a natural and mature lake, suggesting that it is in an equilibrium state even if there are seasonal fluctuations within the lake.

For these reasons, in this study, a simple eutrophication model was developed for Köyceğiz Lake using a steady-state approach, eliminating the need for dynamic modelling. The annual average TP concentrations were calculated for the epilimnion and hypolimnion layers using the steps described below.

Since water travel time in streams is generally within hours, the retention and transformation of nutrients in the streams were not considered in calculating diffuse TP loads at this study stage. Instead, the streams were regarded as conduits that collect and channel TP loads into the basin. Considering the meromictic nature of the lake, the developed model in this study consisted of two layers, namely the epilimnion and hypolimnion, characterised by stable stratification (Figure 4). The condition of the epilimnion and hypolimnion layers and the necessary morphological information for Köyceğiz Lake were obtained from Ertürk (2002).

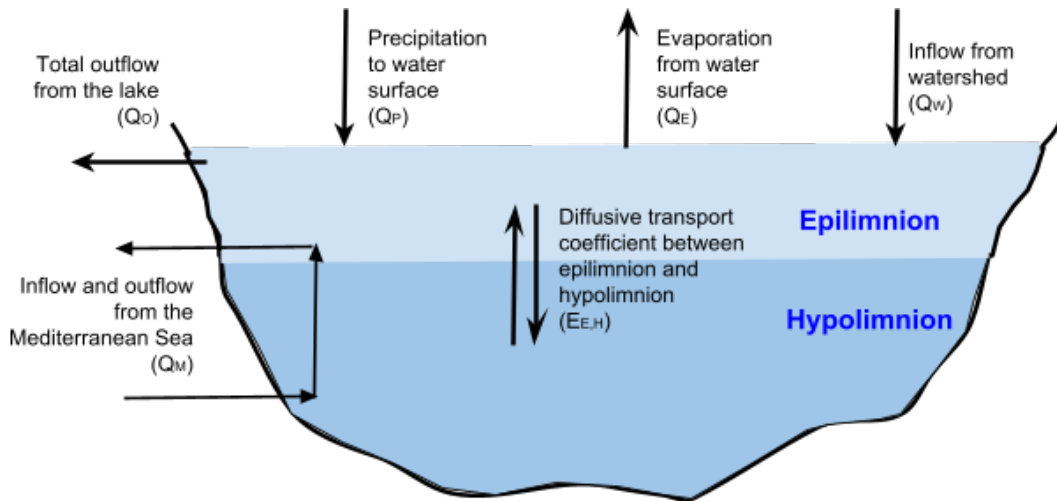


Figure 4. Schematic diagram of the lake

where

Q_W = Freshwater inflow rate of the lake ($m^3 \text{ day}^{-1}$), Q_P =Precipitation to the water surface ($m^3 \text{ day}^{-1}$), Q_E = Evaporation from water surface ($m^3 \text{ day}^{-1}$), Q_M = Inflow from the Mediterranean Sea ($m^3 \text{ day}^{-1}$), $Q_{O,E}$ =Total outflow from the epilimnion ($m^3 \text{ day}^{-1}$), $Q_{O,H}$ =Total outflow from the hypolimnion ($m^3 \text{ day}^{-1}$).

The estimation of the average annual inflow from the Mediterranean Sea into Köyceğiz Lake and the diffusive transport within the lake were conducted using the salt budget, based on data from Kazancı et al. (1992) and Bayarı et al. (1995) (details can be found in Appendix C). As mentioned earlier, TP

was identified as the limiting nutrient in Köyceğiz Lake (Taşeli, 2017; Keskin, 2019). Considering this, the TP mass balance in the lake was solved using linear equations for the steady-state condition.

Monitoring data provided by Gürel (2000) indicated that the TP concentrations in the Mediterranean Sea were nearly the same at the surface and bottom of the Dalyan Channel. Considering this, the TP concentration entering the lake from the Mediterranean Sea through the Dalyan Channel was determined to be $65 \mu\text{g L}^{-1}$, as reported in a recent study by Karaca (2020).

The mass balance equations for TP can be expressed as follows.

$$Q_{O,E} = Q_W + Q_P - Q_E + Q_M \tag{1}$$

$$Q_{O,H} = Q_M \tag{2}$$

$$\frac{dP_E}{dt} = -\left(\frac{Q_M + Q_{O,E}}{V_E} + \frac{\vartheta_{S,E}}{H_E}\right) \cdot P_E + \frac{Q_M}{V_E} \cdot P_H + \frac{W_{P,E}}{V_E} + \frac{E_{E,H} \cdot (P_H - P_E)}{V_E} \tag{3}$$

$$\frac{dP_E}{dt} = -\left(\frac{Q_M + Q_{O,E}}{V_E} + \frac{\vartheta_{S,E}}{H_E} + \frac{E_{E,H}}{V_E}\right) \cdot P_E + \left(\frac{Q_M + E_{E,H}}{V_E}\right) \cdot P_H + \frac{W_{P,E}}{V_E} \tag{4}$$

$$\frac{dP_H}{dt} = \frac{\vartheta_{S,E}}{H_E} \cdot \frac{A_{E,H}}{A_S} \cdot P_E - \left(\frac{Q_M}{V_H} + \frac{\vartheta_{S,H}}{H_H}\right) \cdot P_H + \frac{W_{P,H}}{V_H} + \frac{Q_M}{V_H} \cdot P_M + \frac{E_{E,H} \cdot (P_E - P_H)}{V_H} \tag{5}$$

$$\frac{dP_H}{dt} = \left(\frac{\vartheta_{S,E}}{H_E} \cdot \frac{A_{E,H}}{A_S} + \frac{E_{E,H}}{V_H}\right) \cdot P_E - \left(\frac{Q_M}{V_H} + \frac{\vartheta_{S,H}}{H_H} + \frac{E_{E,H}}{V_H}\right) \cdot P_H + \frac{W_{P,H}}{V_H} + \frac{Q_M \cdot P_M}{V_H} \tag{6}$$

where

P_E = TP concentration in epilimnion ($\mu\text{g L}^{-1}$), P_H = TP concentration in hypolimnion ($\mu\text{g L}^{-1}$), P_M = TP concentration of Mediterranean Sea ($\mu\text{g L}^{-1}$), $v_{S,E}$ = Settling velocity of epilimnion layer (m d^{-1}), $v_{S,H}$ = Settling velocity of hypolimnion layer (m d^{-1}), V_E = Volume of epilimnion layer (m^3), V_H = Volume of hypolimnion layer (m^3), H_E = Height of epilimnion layer (m), H_H = Height of hypolimnion layer (m), $A_{S,H}$ = Surface area of the lake (m^2), $A_{E,H}$ = Interface area between epilimnion and hypolimnion layers (m^2), $E_{E,H}$ = Diffusive transport coefficient between epilimnion and hypolimnion layers ($\text{m}^3 \text{ day}^{-1}$), $W_{P,E}$ = Land-based loads into epilimnion ($\text{g m}^{-3} \text{ d}^{-1}$), $W_{P,H}$ = Land-based loads into hypolimnion ($\text{g m}^{-3} \text{ d}^{-1}$).

At steady-state conditions, the following equations were derived using constant "a" for the transfer between the epilimnion and hypolimnion and between the hypolimnion and epilimnion:

$$a_{E,E} \cdot P_E + a_{E,H} \cdot P_H + W'_{P,E} = 0 \quad (7)$$

$$a_{H,E} \cdot P_E + a_{H,H} \cdot P_H + W'_{P,E} + W'_M = 0 \quad (8)$$

If we express it in matrix form and then multiply both sides by -1 (inverting the matrix), we obtain our system matrix and the constant vector.

$$\begin{bmatrix} a_{E,E} & a_{E,H} \\ a_{H,E} & a_{H,H} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_E \\ P_H \end{bmatrix} = - \left(\begin{bmatrix} W'_{P,E} \\ W'_{P,H} \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ W'_M \end{bmatrix} \right) \quad (9)$$

$$W'_{P,E} = W'_{T,PE} \quad (10)$$

$$W'_{P,H} + W'_M = W'_{T,PH} \quad (11)$$

$$\begin{bmatrix} a_{E,E} & a_{E,H} \\ a_{H,E} & a_{H,H} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_E \\ P_H \end{bmatrix} = - \begin{bmatrix} W'_{T,PE} \\ W'_{T,PH} \end{bmatrix} \times (-1) \quad (12)$$

$$\begin{bmatrix} -a_{E,E} & -a_{E,H} \\ -a_{H,E} & -a_{H,H} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} P_E \\ P_H \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} W'_{T,PE} \\ W'_{T,PH} \end{bmatrix} \quad (13)$$

$$\text{inv} \left(\begin{bmatrix} -a_{E,E} & -a_{E,H} \\ -a_{H,E} & -a_{H,H} \end{bmatrix} \right) = \begin{bmatrix} \text{mia}_{E,E} & \text{mia}_{E,H} \\ \text{mia}_{H,E} & \text{mia}_{H,H} \end{bmatrix} \quad (14)$$

$$\begin{bmatrix} P_E \\ P_H \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \text{mia}_{E,E} & \text{mia}_{E,H} \\ \text{mia}_{H,E} & \text{mia}_{H,H} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} W'_{T,PE} \\ W'_{T,PH} \end{bmatrix} \quad (15)$$

Finally, the TP concentrations for the epilimnion (PE) and hypolimnion (PH) layers were calculated using the following equations (Equations 16-17):

$$P_E = \text{mia}_{E,E} \cdot W'_{T,PE} + \text{mia}_{E,H} \cdot W'_{T,PH} \quad (16)$$

$$P_H = \text{mia}_{H,E} \cdot W'_{T,PE} + \text{mia}_{H,H} \cdot W'_{T,PH} \quad (17)$$

The TP load is transported along the streams and enters the epilimnion layer of the lake due to density differences between the streams and the lake. The water densities of the streams in the basin were calculated using the equations provided by Millero and Poisson in 1981 (Table 3). For this purpose, the monthly average air temperatures for the period 2012-2022 from the Köyceğiz Station of the Turkish State Meteorological Service (TSMS) were used to calculate the stream water temperatures based on the relationship given by Stefan and Preud'homme 1993. It can be stated that a significant portion of the streams examined in the relevant reference has similar basin sizes and flow rates to the streams in the Köyceğiz Lake basin, and they also show similarities in terms of climate characteristics due to their latitude. The salinity level for the streams was assumed to be zero, and in order to stay on the most reliable side, it was assumed that there was no increase in stream water temperatures due to climate change. On the other hand, to determine the density of Köyceğiz Lake, the values for the lowest density of the lake given in August by Kazancı et al. 1992 were used, and the density of Köyceğiz Lake was calculated as $1000.36 \text{ kg m}^{-3}$. When considering this value in the context of current conditions and climate change, according to Mohamed et al. 2019, there was a temperature increase of $0.038 \text{ }^\circ\text{C}$ per year in surface seawater temperatures in the Levantine Basin between 1992 and 2018. Therefore, it can be said that the sea surface temperature in the region has increased by approximately $1 \text{ }^\circ\text{C}$ since 1992. When this increase is reflected in the lake water temperature, the density of the lake is calculated as $1000.045 \text{ kg m}^{-3}$. Consequently, the meromictic condition of Köyceğiz Lake remains unaffected by the increase in water temperature due to climate change and the resulting change in lake density.

Since total phosphorus is kinetically conservative, the only loss mechanisms are outflow (already obtained through the water balance) and settling velocity, which needs to be calibrated as a parameter. It is assumed that TP in the lake is transported solely through precipitation at different sedimentation rates in the epilimnion and hypolimnion.

The model was calibrated by comparing the model results with the surface and bottom layer TP concentrations measured in the monitoring study published by Keskin (2019). Model calibration was achieved by adjusting the settling rates of the epilimnion and hypolimnion compartments. A spreadsheet-based infrastructure was also developed for automatically generating nutrient loads, the lake eutrophication model, and its optimization-based calibration (Figure 5).

Model calibration was performed using nonlinear programming, where the objective was to minimise the difference between the model results and field data. Following the calibration of the model, a validation study was conducted for the epilimnion layer. It should be noted that the field data for the years 2008-2011, provided in Taşeli (2017), only pertained to the lake's surface water. The calculated total loads for 2008-2011 were utilised during the validation process.

Results and Discussion

Estimation of TP Loads

Diffuse and point source TP loads from various activities were estimated for 1990, 2000, 2006, 2012, and 2018 (Table 4).

The point source TP loads were regulated through the operation of municipal wastewater treatment plants starting in 2002. The total point source TP load was calculated as 2.47 tons per year in 2018, compared to 8.93 tons per year before the treatment plant became operational. Tanık et al. (2005) estimated the point source TP load of the lake as 1.88 tons per year in 2004. Despite the presence of the wastewater treatment plant, the increase in the TP load can be attributed to the growing population in the basin.

Diffuse pollution in the basin was assessed by considering TP loads originating from agricultural activities (fertiliser usage), livestock activities, and land use activities. To facilitate calibration, the results from 2006 can be compared to those obtained by Tanık et al. (2005). Their study determined the amount of diffuse pollution to be 26.4 tons of TP per year using the MONERIS (MOdelling Nutrient Emissions into RIVER Systems) approach. It can be inferred that the unit loads and assumptions were adequately appropriate for the case area compared to the available literature.

Table 3. Estimated monthly densities of the stream's water

Months of the year	Monthly average T (°C)-air ^a	Monthly average T (°C) –water	Estimated density of the streams ρ (kg m ⁻³) ^c
1	9.2	11.9	999.56
2	11.3	13.4	999.38
3	12.8	14.6	999.21
4	17.0	17.7	998.70
5	21.5	21.2	998.00
6	26.2	24.6	997.20
7	29.5	27.1	996.54
8	29.5	27.1	996.54
9	25.8	24.4	997.25
10	20.2	20.2	998.21
11	15.2	16.4	998.93
12	10.6	12.9	999.44

^a: TSMS, Köyceğiz Station, monthly average air temperature data between 2012-2022.

^b: Calculation based on Stefan and Preud'homme, 1993.

^c: Calculation based on Millero and Poisson 1981.

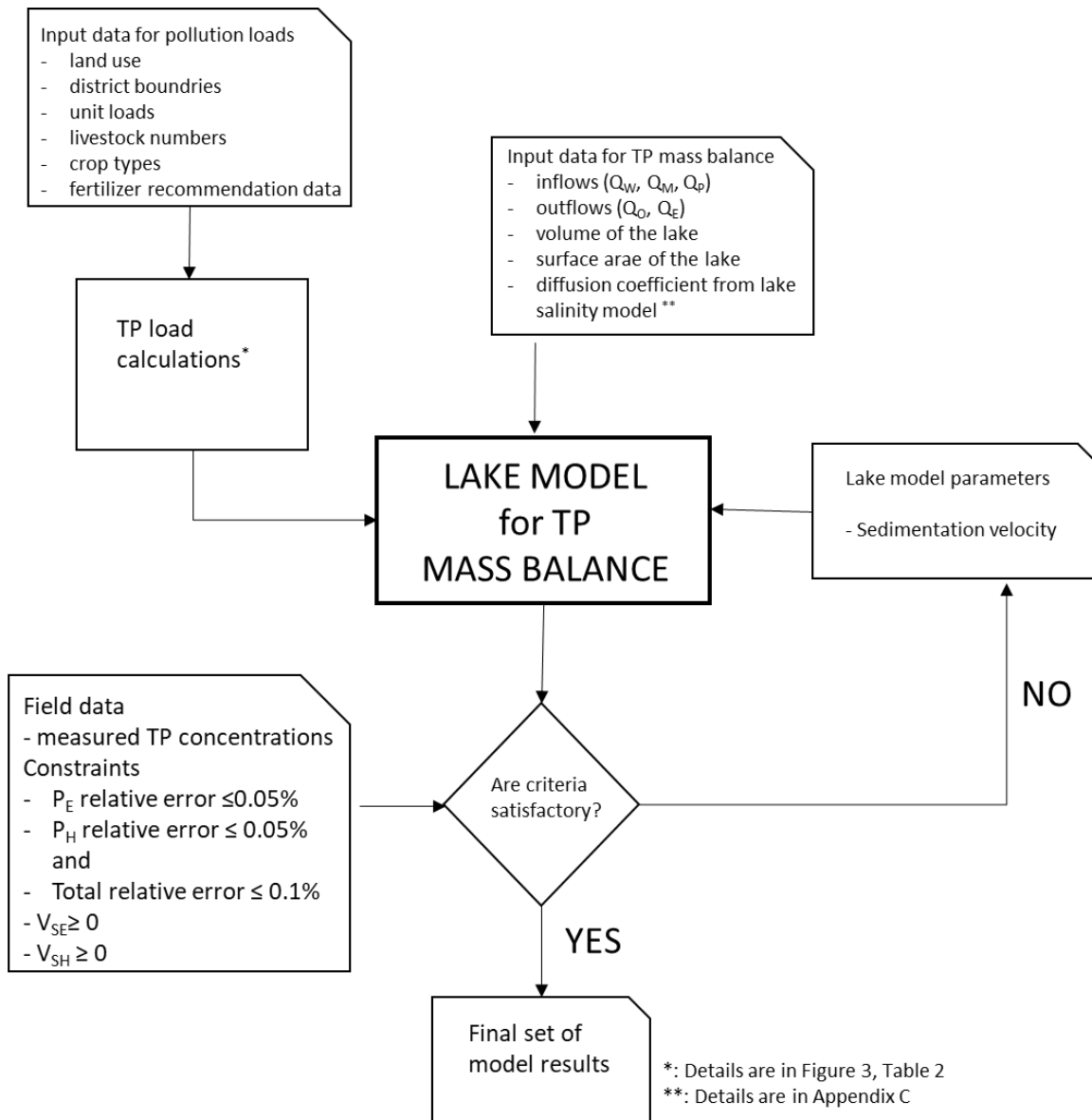


Figure 5. Flow chart of the optimisation of the lake model for TP mass balance

Table 4. Point and diffuse TP pollution loads reaching the lake (ton/yr)

Source Type	Diffuse Source TP Loads (ton/yr)			Point Source TP Load (ton/yr)	TP Load (ton/yr)		
	Land use Activity	Agricultural Activity	Livestock Activity	Domestic Wastewater Treatment Plant Discharge	Total Diffuse Source	Total Point Source	Total
Years							
1990	5.3	16.57	1.40	7.95	23.27	7.95	31.21
2000	5.3	16.70	3.30	8.93	25.33	8.93	34.26
2006	5.4	17.16	5.05	2.22	27.59	2.22	29.81
2012	5.4	17.16	6.00	2.28	28.56	2.28	30.84
2018	5.4	17.33	7.34	2.47	30.06	2.47	32.54

Considering the findings, when examining the diffuse source TP loads, it is evident that fertiliser usage (58%) and livestock activities (24%) had a significant impact in 2018. Evaluating the calculated diffuse source loads by year, it can be observed that the total diffuse TP loads exhibited an increasing trend.

Comparing the estimated diffuse nutrient loads in this study with the point sources, the results of the load calculations indicated that diffuse pollution accounted for 92% of the TP distribution in the basin. Diffuse source TP loads were considerably higher than the point source TP loads, which aligns with the distribution calculated by Tanık et al. (2005). Both studies emphasise that measures have been implemented to control point sources, achieve the desired water quality in the lake, and prevent eutrophication. However, insufficient actions have been taken since 2004 to reduce diffuse pollution, highlighting the need for additional measures.

Travel Time in The Streams

An investigation of the streams, based on flow data and topographical information (main streams with high slopes), revealed that the water travel time in the streams was mainly within a range of hours, rarely exceeding a day (Table 5). As a result, nutrient retention and transformation in the streams should have been addressed at this study stage. Furthermore, the streams were considered conduits that collect and channel the phosphorus loads into the basin.

The longest travel time, 8 hours, was observed along Namnam Creek, while the shortest travel time, 2 hours, was observed along Kargıcak Creek. Considering that over 50% of the basin area belongs to Namnam Creek and that a significant portion

of the pollution loads originates from the Namnam Creek basin, TP is transported through the streams hourly. A similar approach was applied to modelling the basin in the study conducted by Tanık et al. (2005).

The Lake Eutrophication Model System

A simple model system based on the phosphorus budget in meromictic Köyceğiz Lake was successfully established and calibrated (Table 6). The model calibration involved comparing the yearly average TP concentrations in the epilimnion and hypolimnion with the surface and bottom monitoring results published by Keskin (2019). It was performed using an optimisation algorithm to minimise the steady-state model results disparity. The calibration yielded satisfactory results, with a total relative error of less than 1% for TP concentrations and a relative error of 0.5% for each layer's TP concentration. The calculated settling velocities were 0.092 and 0.005 for the epilimnion and hypolimnion layers, respectively.

The validation study results for the epilimnion indicate that the calculated TP concentration was $35.16 \mu\text{g L}^{-1}$, while the measured concentration was $35.7 \mu\text{g L}^{-1}$ (Taşeli, 2017), averaging over four years. The model successfully estimated the TP concentration within a range of $\pm 1\text{-}2\%$ of the difference for the epilimnion.

According to the Surface Water Quality Regulations (SWQR) in Türkiye (MoAF, 2021) Annex-6, Table-9, if the Trophic State Index (TSI) of TP falls between 52 and 62, the lake is classified as eutrophic. Based on the model results, Köyceğiz Lake was eutrophic in both layers, with TSI (TP) values of 56 for the epilimnion and 70 for the hypolimnion.

Table 5. TP travel time in the main streams of the basin

	Length of creek (km)	Average width of the creek (m)	Average velocity (m s ⁻¹)	Average travel time (h)
Namnam Creek	54	25	1.88	8
Yuvarlak Creek	21	14	1.24	5
Kargıcak Creek	11	10	1.45	2
Sarıöz Creek	5	10	0.37	4
Hamitköy Creek	7	10	0.24	7

Future Assessment of Eutrophication

The model, at this stage, proved to be satisfactory for investigating and assessing the trophic state of Köyceğiz Lake in the future, considering various influencing factors such as changes in water budget due to climate change and alterations in total TP load resulting from developments in the basin, including population growth and expansion of the livestock sector.

Table 7 presents the estimated freshwater inflow from the basin into the lake and the point and diffuse TP loads. As observed in Table 7, while total TP loads are expected to exhibit a slight 4% increase due to anticipated developments in the basin, it is predicted that freshwater inflow will experience a significant decrease of 65% between 2018 and 2035, primarily attributed to the regional impacts of climate change. Looking ahead to the predicted changes between 2035 and 2095, total TP loads continue to rise by 8%, whereas freshwater inflow continues to decline by 28%.

When running the eutrophication model with the data provided in Table 7 for future projections, we obtained the yearly average concentrations of epilimnion TP (PE) and hypolimnion TP (PH) in the lake (Table 8). The model was executed

for three scenarios: Scenario A, where only the freshwater inflow changes; Scenario B, where only the TP load changes; and Scenario C, where both freshwater inflow and TP loads change.

In Figure 6, the TSI results illustrating the future eutrophication status of the lake are presented for the epilimnion (a) and hypolimnion (b). Analysing the epilimnion situation between the 2030s and 2090s, the calculated TSI values of 66 and 68 in Scenario A and 57 and 58 in Scenario B indicate that the crucial factor determining the future eutrophication status in the lake basin is the reduction in freshwater inflow caused by climate change. Considering the combined impact in Scenario C, the projected TSI values of 67 and 70 indicate a hypertrophic status ($TSI > 62$).

The findings indicate that the hypolimnion would exhibit a more severe hypertrophic status with significantly higher TSI values. Between the 2030s and 2090s, the calculated TSI values were 78 and 81 in Scenario A, 70.6 and 71.5 in Scenario B, and 79 and 82 in Scenario C, respectively. It was demonstrated that for both layers, the impact of climate change, specifically the reduction in freshwater inflow, had a more pronounced influence on the trophic state of Köyceğiz Lake compared to the developments in the basin and the resulting point and diffuse TP pollution.

Table 6. Model results

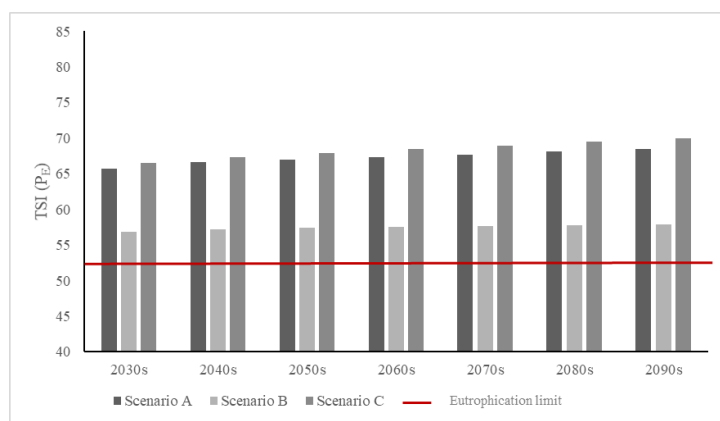
Parameters	Unit	Abbreviation	Model Result	Field Data
Inflow from the Mediterranean Sea	$m^3 s^{-1}$	Q_M	2.63	-
Diffusive transport in the lake	$m^3 s^{-1}$	$E_{E,H}$	7.50	-
Outflow	$m^3 s^{-1}$	Q_O	28.06	-
Settling velocity in the epilimnion	$m d^{-1}$	$V_{S,E}$	0.028	-
Settling velocity in the hypolimnion	$m d^{-1}$	$V_{S,H}$	0.003	-
Total Phosphorus in the epilimnion	$\mu g L^{-1}$	P_E	37.52	37.5
Total Phosphorus in the hypolimnion	$\mu g L^{-1}$	P_H	97.45	97.5

Table 7. Future freshwater inflow and TP loads

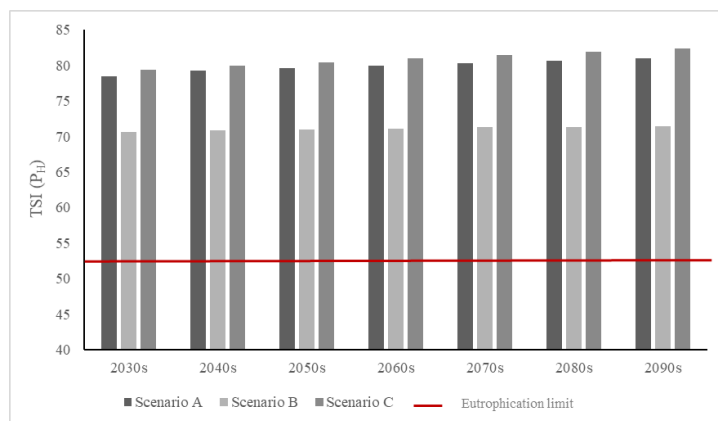
Years	Freshwater Inflow ($m^3 s^{-1}$)	Point TP Load ($ton yr^{-1}$)	Diffuse TP Load ($ton yr^{-1}$)
2030s	8.17	2.91	30.87
2040s	7.78	3.16	31.34
2050s	7.40	3.40	31.66
2060s	7.02	3.63	31.89
2070s	6.64	3.84	32.07
2080s	6.25	4.04	32.20
2090s	5.87	4.21	32.31

Table 8. Future average TP concentrations in Köyceğiz Lake for different scenarios

Years	Scenario A		Scenario B		Scenario C	
	$P_E (\mu\text{g L}^{-1})$	$P_H (\mu\text{g L}^{-1})$	$P_E (\mu\text{g L}^{-1})$	$P_H (\mu\text{g L}^{-1})$	$P_E (\mu\text{g L}^{-1})$	$P_H (\mu\text{g L}^{-1})$
2030s	71.62	173.11	38.78	100.26	75.56	184.05
2040s	75.93	182.65	39.51	101.87	79.96	191.60
2050s	77.84	186.89	40.08	103.13	83.15	198.67
2060s	79.85	191.35	40.54	104.16	86.29	205.63
2070s	81.96	196.04	40.94	105.04	89.43	212.62
2080s	84.25	201.12	41.27	105.78	92.68	219.82
2090s	86.61	206.35	41.56	106.41	95.93	227.03



(a)



(b)

Figure 6. Different scenarios TSI results for the epilimnion (a) and hypolimnion (b)

Conclusions

Köyceğiz Lake is at risk from two severe phenomena: (1) changes in freshwater inflow due to climate change, and (2) increasing agricultural and partially controlled livestock activities leading to diffuse pollution.

A successful model system has been developed and calibrated to assess the TP concentration in Köyceğiz Lake. The model provides results about future scenarios, including development and climate change. The eutrophication model results indicate that Köyceğiz Lake was already eutrophic in both layers in 2018. Given that Köyceğiz Lake is a designated environmental protection area, the objective should be to achieve a trophic status better than eutrophic, preferably mesotrophic ($TSI (TP) < 52$). However, the projected future situation suggests that the lake's trophic status will be hypertrophic. The model developed here is a simple model that requires fewer parameters to understand the key factors driving eutrophication in the lake.

Consequently, the model developed here can serve as a management tool for decision-makers to select appropriate measures in the basin to prevent eutrophication.

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interest: The authors declare that they have no actual, potential, or perceived conflict of interest for this article.

Ethics committee approval: Ethics committee approval is not required for this study.

Funding disclosure: -

Acknowledgements: -

Disclosure: -

References

- Ayaz, S., Aktaş, Ö., Dağlı, S., Aydoğan, C., Aytış, E.A., Akça, L. (2013). Pollution loads and surface water quality in the Kızılırmak Basin, Turkey. *Desalination and Water Treatment*, 51(7-9), 1533-1542. <https://doi.org/10.1080/19443994.2012.698814>
- Ayaz, S., Atasoy Aytış, E., Gürsoy Haksevenler, H., Koyunluoğlu Aynur, Ş., Dilaver, M., Erdoğan, N., Karaaslan, Y. (2021). An approach for determining the nutrient sensitive areas: a case study for Gediz River Basin, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(5), 1-20. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09017-x>
- Ayaz, S., Atasoy Aytış, E., Koyunluoğlu Aynur, Ş., Kiran, B., Beşiktaş, M., Sarıkaya, Ö., Karaaslan, Y. (2022). Simplified methodologies to designate sensitive areas and nitrate vulnerable zones: A case study of Yesilirmak River Basin, Turkey. *Environmental Quality Management*, 32(1), 483-494. <https://doi.org/10.1002/tqem.21833>
- Ayaz, S., Aytis, E., Aynur, S., Haksevenler, B.H., Kiran, B., Dereli, E.M., Dilaver, M., Erdogan, N., Besiktas, M., Kinaci, C. (2017). The methodology of pollution load calculations. Solutions to Water Challenges in MENA Region, *Proceedings of the Regional Workshop, Cairo, Egypt*, April 25-30, Göttingen, Germany: Cuvillier Verlag.
- Balooch, M.A. (2009). Hydrological simulation program-Fortran (HSPF) model as a decision support tool for a developing country-A case study from Turkey. [dissertation]: İTÜ.
- Bayari, C. S., Kazanci, N., Koyuncu, H., Çağlar, S. S., Gökçe, D. (1995) Determination of the origin of the waters of Köyceğiz Lake, Turkey. *Journal of Hydrology*, 166(1-2), 171-191. [https://doi.org/10.1016/0022-1694\(94\)02554-O](https://doi.org/10.1016/0022-1694(94)02554-O)
- Buckley, C. and Carney, P. (2013). The potential to reduce the risk of diffuse pollution from agriculture while improving economic performance at farm level. *Environmental Science and Policy*, 25, 118-126. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2012.10.002>
- Carlson, R.E. (1977). A trophic state index for lakes. *Limnology and Oceanography*, 22(2), 361-369. <https://doi.org/10.4319/lo.1977.22.2.0361>
- Carlson, R.E., Simpson, J. (1996). A coordinator's guide to volunteer lake monitoring methods. *North American Lake Management Society*.
- CORINE Land Cover. Copernicus, Available online: <http://land.copernicus.eu/pan-european/corine-land-cover> (accessed on 10 May 2022).
- DEFRA (Department for Environment, Food and Rural Affairs) (2002). The Government's Strategic Review of diffuse water pollution from agriculture in England: Agriculture and Water: A Diffuse Pollution Review.
- Ekdal, A. (2008). Water quality modeling of Köyceğiz-Dalyan Lagoon. [dissertation]: İTÜ.
- Ertürk, A., Ekdal, A., Gürel, M., Karakaya, N., Güzel, Ç., Gönenç, İ.E. (2014). Evaluating the impact of climate change on groundwater resources in a small Mediterranean watershed. *Science of the Total Environment*, 499, 437-447. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.07.001>
- Ertürk, A. (2002). Hydraulic modeling of Köyceğiz-Dalyan Lagoon system. [master's thesis]: İTÜ.
- Görgüner, M., Kavvas, M.L., Ishida, K. (2019). Assessing the impacts of future climate change on the hydroclimatology of the Gediz Basin in Turkey by using dynamically downscaled CMIP5 projections. *Science of the Total Environment*, 648, 481-499. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.167>
- Gürel, M., Erturk, A., Şeker, D.Z., Tanik, A., Ekdal, A., Avsar, C., Öztürk, İ. (2011). Estimation of monthly diffuse nutrient loads for a watershed in Turkey. *Water and Environment Journal*, 25(2), 219-229. <https://doi.org/10.1111/j.1747-6593.2009.00214.x>
- Gürel, M. (2000). Nutrient dynamics in coastal lagoons: Dalyan Lagoon case study. [dissertation]: İTÜ.
- Güzel, Ç. (2010). Application of SWAT model in a watershed in Turkey. [master's thesis]: İTÜ.

- IPCC (2022). Sixth Assessment Report, Working Group II-Impacts, Adaptation and Vulnerability.
- Karaca, T. (2020). Determination of some ecological parameters in Dalyan Channels (Köyceğiz-Muğla). [master's thesis]: Muğla Sıtkı Koçman University.
- Kazanci, N., Plasa, R.H., Neubert, E., İzbirak, A. (1992). On the limnology of Lake Köyceğiz (SW Anatolia). *Zoology in the Middle East*, 6(1), 109-126.
<https://doi.org/10.1080/09397140.1992.10637619>
- Keskin, F. (2019). Determination of toxic metal and eutrophication risks in Köyceğiz Lake Dalyan Lagoon system, Turkey. [dissertation]: Muğla Sıtkı Koçman University.
- Koçak, M., Kubilay, N., Tuğrul, S., Mihalopoulos, N. (2010). Atmospheric nutrient inputs to the northern levantine basin from a long-term observation: sources and comparison with riverine inputs. *Biogeosciences*, 7(12), 4037-4050.
<https://doi.org/10.5194/bg-7-4037-2010>
- Kress, N., Herut, B. (2001). Spatial and seasonal evolution of dissolved oxygen and nutrients in the Southern Levantine Basin (Eastern Mediterranean Sea): chemical characterization of the water masses and inferences on the N: P ratios. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 48(11), 2347-2372.
[https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(01\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(01)00022-X)
- Krom, M.D., Kress, N., Brenner, S., Gordon, L.I. (1991). Phosphorus limitation of primary productivity in the eastern Mediterranean Sea. *Limnology and Oceanography*, 36(3), 424-432.
<https://doi.org/10.4319/lo.1991.36.3.0424>
- Krom, M.D., Woodward, E.M. S., Herut, B., Kress, N., Carbo, P., Mantoura, R.F.C., Zodiatis, G. (2005). Nutrient cycling in the south east Levantine basin of the eastern Mediterranean: Results from a phosphorus starved system. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 52(22-23), 2879-2896.
<https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2005.08.009>
- Lazzari, P., Solidoro, C., Salon, S., Bolzon, G. (2016). Spatial variability of phosphate and nitrate in the Mediterranean Sea: A modeling approach. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 108,39-52.
<https://doi.org/10.1016/j.dsr.2015.12.006>
- Millero, F.J., Poisson, A. (1981). International one-atmosphere equation of state of seawater. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 28(6), 625-629.
[https://doi.org/10.1016/0198-0149\(81\)90122-9](https://doi.org/10.1016/0198-0149(81)90122-9)
- MoAF (2021). Implementing Regulation Amending the Regulation on Surface Water Quality, Turkish Official Gazette. 31513. Turkish.
- MoAF (2018). Fertilizer Recommendation Guideline, Available on:
<https://www.tarimorman.gov.tr/TAGEM/Belgeler/yayin/TO-PRAKSU%20G%C3%9CBRE%20TAVS%C4%B0YE%20%20Verileri.pdf> (accessed on 10 May 2022).
- Mohamed, B., Abdallah, A. M., Alam El-Din, K., Nagy, H., Shaltout, M. (2019). Inter-annual variability and trends of sea level and sea surface temperature in the Mediterranean Sea over the last 25 years. *Pure and Applied Geophysics*, 176, 3787-3810.
<https://doi.org/10.1007/s00024-019-02156-w>
- NAO (National Audit Office) (2010). Environment Agency, Tackling diffuse water pollution in England.
<https://doi.org/10.1111/j.1752-1688.1993.tb01502.x>
- Özgül, N. (2015). Determination of zooplankton fauna of Köyceğiz Lake (Muğla) and their relationship with physico-chemical properties. [dissertation]: Muğla Sıtkı Koçman University.
- Stefan, H.G., Preud'homme, E.B. (1993). Stream temperature estimation from air temperature. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 29(1), 27-45.
- Şen, O.L. (2013). A holistic view of climate change and its impacts in Turkey. Istanbul Policy Center, Sabancı University, Stiftung Mercator Initiative, Mercator-IPC Fellowship Project, Istanbul, Turkey.
- Şen, Z. (2020). Water structures and climate change impact: a review. *Water Resources Management*, 34(13), 4197-4216.
<https://doi.org/10.1007/s11269-020-02665-7>

Tanık, A., Seker, D.Z., Gürel, M., Adalı, I., Ertürk, A., Ekdal, A. (2005). Results of nutrient emission modeling in a watershed-application of the MONERIS Model. Proceedings of the Management of Residues Emanating from Water and Wastewater Treatment, Johannesburg, South Africa, 9-12 August.

Taşeli, B.K. (2017). Influence of channel traffic and Koycegiz Lake on the water quality of Dalyan Channel network. *Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)*, 16(12).

TSMS, Turkish State Meteorologic Servise; Köyceğiz Station, air temperature data, 2012-2022.

TurkStat (a). Turkish Statistical Institute, Population, and demography statistics, Available online:

<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr> (accessed on 10 May 2022).

TurkStat (b). Turkish Statistical Institute, Agriculture statistics, Available online:

<https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=101&locale=tr> (accessed on 10 May 2022).

Udias, A., Malagò, A., Pastori, M., Vigiak, O., Reynaud, A., Elorza, F.J., Bouraoui, F. (2016). Identifying efficient nitrate reduction strategies in the Upper Danube. *Water*, 8(9), 371.

<https://doi.org/10.3390/w8090371>

Vollenweider, R.A. (1976). Advances in defining critical loading levels for phosphorus in lake eutrophication. *Mem. Ist ital. Idrobiol*, 33, 53-58.

Appendix A

Estimation of Future Population and Livestock

To estimate the population, number of bovine livestock and ovine livestock in the watershed, the logistic curve method was used (Eq A.1).

$$\frac{dN}{dt} = r \cdot N \cdot \left(1 - \frac{N}{K}\right) \quad (\text{A.1})$$

where N is the number of variable of interest (population, number of bovine livestock and number of ovine livestock), t is the time, r is the increase rate constant (1/time) and K is the quantity in numbers related to the variable of interest at saturation (acting like a carrying capacity). Evaluation of Equation A.1 leads to a Bernoulli type of differential equation;

$$\frac{dN}{dt} = r \cdot N - r \cdot N \cdot \frac{N}{K} \quad (\text{A.2})$$

$$\frac{dN}{dt} = r \cdot N - \frac{r}{K} \cdot N^2 \quad (\text{A.3})$$

$$\frac{dN}{dt} - r \cdot N = -\frac{r}{K} \cdot N^2 \quad (\text{A.4})$$

which can be solved for the initial condition (t=0, N=N₀). Setting an integration as given in Equation A.5, the general solution is as given in Equation A.7.

$$I(t) = \exp\left((1-2) \cdot \int -r \cdot dt\right) = \exp\left(-1 \cdot \int -r \cdot dt\right) = \exp\left(1 \cdot r \cdot \int dt\right) = \exp(r \cdot t) \quad (\text{A.5})$$

$$N^{-1} = \frac{1}{I(t)} \cdot \left(-\int \left(-\frac{r}{K} \cdot I(t)\right) \cdot dt + S\right) = \frac{1}{\exp(r \cdot t)} \cdot \left(-\int \left(-\frac{r}{K} \cdot \exp(r \cdot t)\right) \cdot dt + S\right) =$$

$$\frac{1}{\exp(r \cdot t)} \cdot \left(\frac{r}{K} \cdot \int (\exp(r \cdot t)) \cdot dt + S\right) = \frac{1}{\exp(r \cdot t)} \cdot \left(\frac{r}{K} \cdot \frac{\exp(r \cdot t)}{r} + S\right)$$

$$\frac{1}{\exp(r \cdot t)} \cdot \frac{r}{K} \cdot \frac{\exp(r \cdot t)}{r} + \frac{S}{\exp(r \cdot t)} = \frac{1}{K} + \frac{S}{\exp(r \cdot t)} \quad (\text{A.6})$$

$$(N^{-1})^{-1} = \left(\frac{1}{K} + \frac{S}{\exp(r \cdot t)}\right)^{-1} = N = \frac{1}{\frac{1}{K} + \frac{S}{\exp(r \cdot t)}} \quad (\text{A.7})$$

where S is the integration constant to be determined using the initial conditions (Equation A.8 - Equation A.12).

$$N_0 = \frac{1}{\frac{1}{K} + \frac{S}{\exp(r \cdot 0)}} = \frac{1}{\frac{1}{K} + S} \quad (\text{A.8})$$

$$N_0 \cdot \left(\frac{1}{K} + S\right) = 1 \quad (\text{A.9})$$

$$\frac{N_0}{K} + N_0 \cdot S = 1 \quad (\text{A.10})$$

$$N_0 \cdot S = 1 - \frac{N_0}{K} \quad (\text{A.11})$$

$$S = \frac{1 - \frac{N_0}{K}}{N_0} = \frac{1}{N_0} - \frac{N_0}{N_0 \cdot K} = \frac{1}{N_0} - \frac{1}{K} \quad (\text{A.12})$$

Substituting the right side of Equation A.12 into Equation A.7 (Equation A.13) yields the desired solution N as a function of time (Equation A.14);

$$N = \frac{1}{\frac{1}{K} + \frac{S}{\exp(r \cdot t)}} = N = \frac{1}{\frac{1}{K} + \frac{\frac{1}{N_0} - \frac{1}{K}}{\exp(r \cdot t)}} \quad (\text{A.13})$$

$$N(t) = \frac{1}{\frac{\exp(r \cdot t)}{K \cdot \exp(r \cdot t)} + \frac{\frac{K}{N_0} - 1}{K \cdot \exp(r \cdot t)}} \quad (\text{A.14})$$

$$= \frac{1}{\frac{\exp(r \cdot t) + \frac{K}{N_0} - 1}{K \cdot \exp(r \cdot t)}}$$

$$= \frac{K \cdot \exp(r \cdot t)}{\exp(r \cdot t) + \frac{K}{N_0} - 1}$$

$$N(t) = \frac{K \cdot \exp(r \cdot t)}{\exp(r \cdot t) + \frac{K}{N_0} - 1} \quad (\text{A.15})$$

Equation A.15 has two parameters (r,K) to be adjusted for the desired variable. For the adjustment of parameters, Excel solver (option non-linear gradient programming) was used where the sum of the absolute values of the differences between the estimated values of the variables by Equation A.15 and the data served as the goal function to be minimized.

To adjust (r,K) for the population, data in Table A.1 was used. The details of parameter adjustments and the estimations are given Table A.2, the goodness of fit with the population data is given Figure A.1 and the future estimate of population is given Figure A.2. For population, r was adjusted as 0.0193 where K was adjusted ad 80830.

Table A.1 Population data

Year	Population (person)
1990	27213
2000	30595
2006	33723
2008	33873
2009	34160
2011	34524
2012	34723
2018	37618
2020	39178

Table A.2 Intermediate results for population logistic-curve parameter adjustment

Year	Years passed from initial year (1990)	Population (person)	Estimated population (person)	Relative error
1990	0	27213	-	-
2000	10	30595	30793	0.006479063
2006	16	33723	33025	0.020691423
2008	18	33873	33780	0.002731337
2009	19	34160	34160	1.75216E-06
2011	21	34524	34922	0.011533759
2012	22	34723	35305	0.016756951
2018	28	37618	37618	2.93564E-07
2020	30	39178	38394	0.020012608

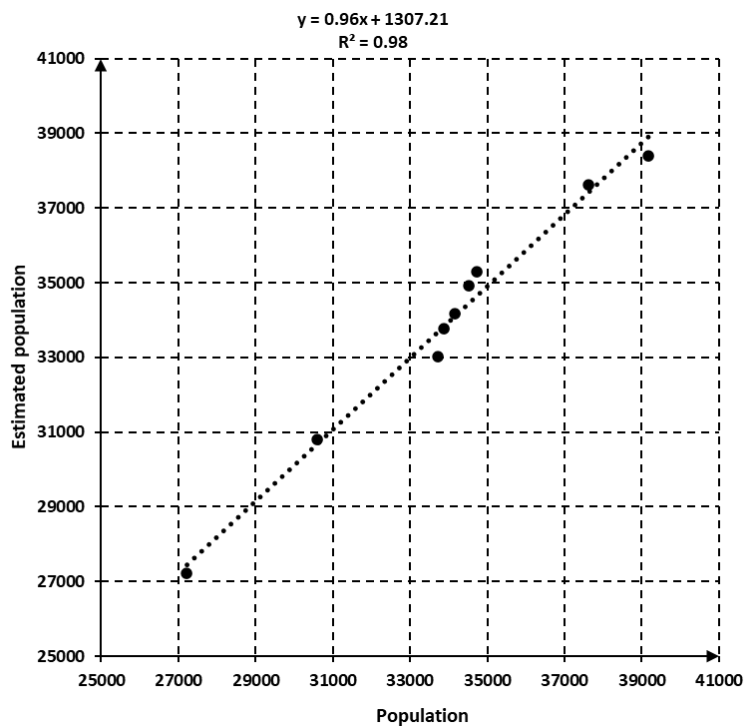


Figure A.1 Goodness of fit of the adjusted parameters r and K for population

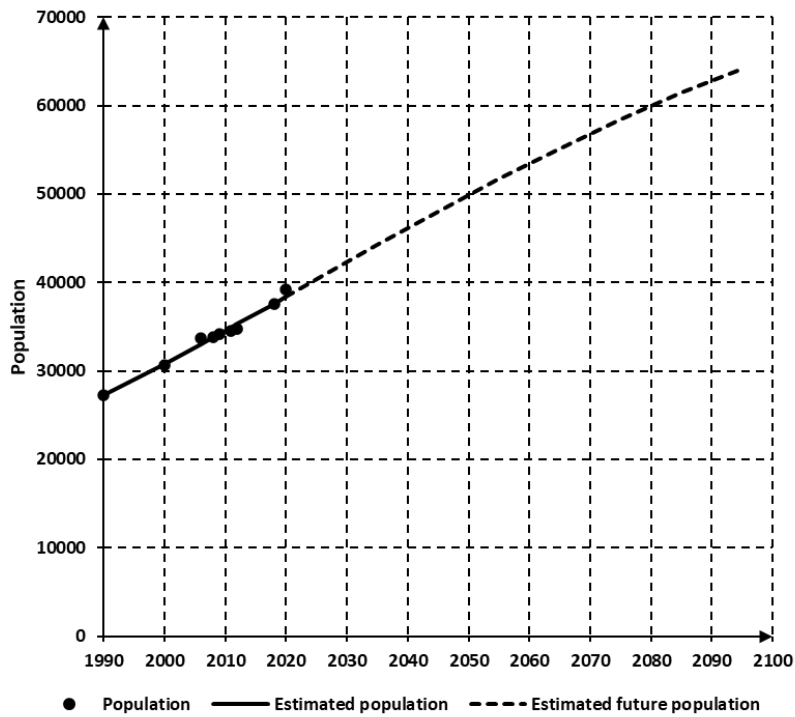


Figure A.2 Estimated population for the future

To adjust (r, K) for the bovine livestock, data in Table A.3 was used. The details of parameter adjustments and the estimations are given Table A.4, the goodness of fit with the bovine livestock data is given Figure A.3 and the future estimate of bovine livestock is given Figure A.4. For bovine livestock, r was adjusted as 0.0753 where K was adjusted ad 17045.

Table A.3 Bovine livestock data

Year	Bovine livestock
2004	9062
2005	9098
2006	10044
2007	9435
2008	10289
2009	10719
2010	10811
2011	11210
2012	11883
2013	13404
2014	12091
2015	11890
2016	12847
2017	12505
2018	14490
2019	13268
2020	14181
2021	12745

Table A.4 Intermediate results for bovine livestock logistic-curve parameter adjustment

Year	Years passed from initial year (2004)	Bovine livestock	Estimated Bovine livestock	Relative error
2004	0	9062	9062	-
2005	1	9098	9381	0.031125673
2006	2	10044	9697	0.034522646
2007	3	9435	10010	0.06091739
2008	4	10289	10319	0.002969657
2009	5	10719	10623	0.008925944
2010	6	10811	10922	0.010258963
2011	7	11210	11214	0.000304194
2012	8	11883	11499	0.032299272
2013	9	13404	11777	0.121408298
2014	10	12091	12047	0.003612329
2015	11	11890	12309	0.035209079
2016	12	12847	12562	0.022176758
2017	13	12505	12806	0.024080456
2018	14	14490	13042	0.099979941
2019	15	13268	13268	2.52913E-07
2020	16	14181	13484	0.049100834
2021	17	12745	13692	0.074313729

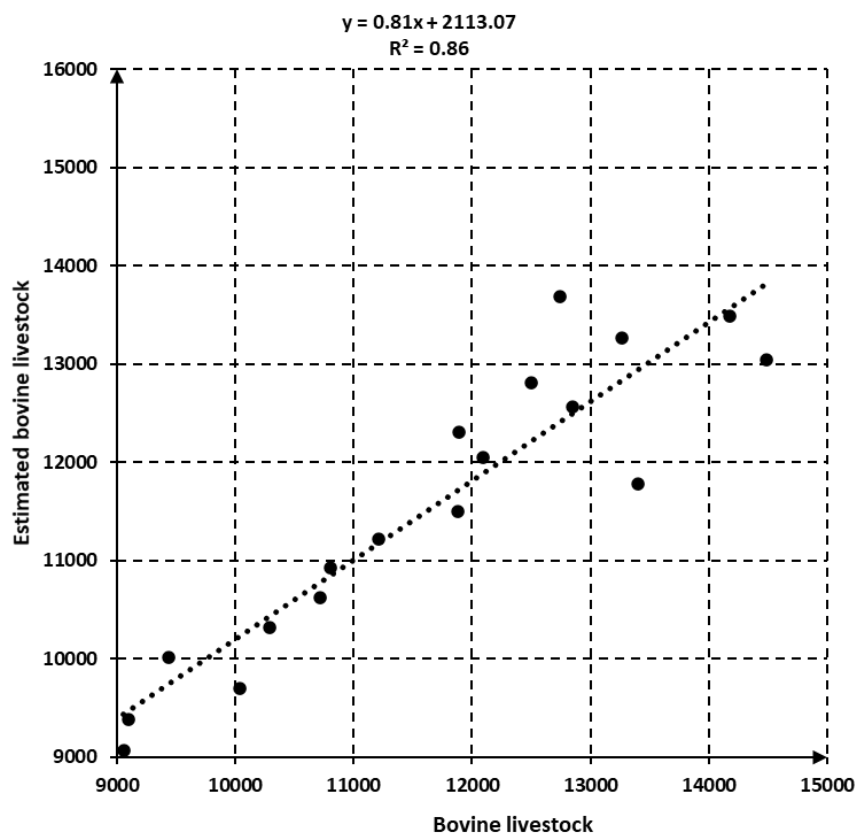


Figure A.3 Goodness of fit of the adjusted parameters r and K for bovine livestock

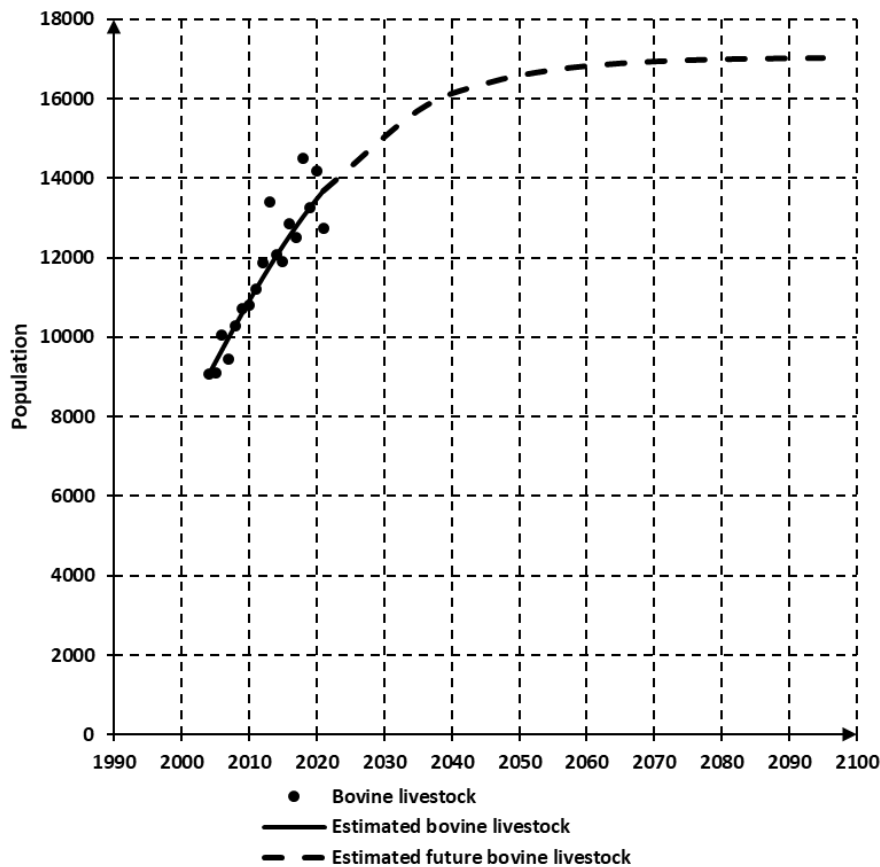


Figure A.4 Estimated population for the bovine livestock

To adjust (r, K) for the ovine livestock, data in Table A.5 was used. The details of parameter adjustments and the estimations are given Table A.6, the goodness of fit with the bovine livestock data is given in Figure A.5, and the future estimate of bovine livestock is given in Figure A.6. For bovine livestock, r was adjusted as 0.0309 where K was adjusted as 87308.

Table A.5 Ovine livestock data

Year	Ovine livestock
2004	20892
2005	17937
2006	19038
2007	18481
2008	18271
2009	18512
2010	18708
2011	22046
2012	23470
2013	27754
2014	33627
2015	27802
2016	31640
2017	24649
2018	29310
2019	27891
2020	32098
2021	30317

Table A.6 Intermediate results for ovine livestock logistic-curve parameter adjustment

Year	Years passed from the initial year (2004)	Ovine livestock	Estimated ovine livestock	Relative error
2004	0	20892	20892	-
2005	1	17937	21387	0.192366723
2006	2	19038	21890	0.14977748
2007	3	18481	22401	0.212062638
2008	4	18271	22919	0.254388968
2009	5	18512	23445	0.266501626
2010	6	18708	23979	0.281767
2011	7	22046	24521	0.112222723
2012	8	23470	25069	0.068121318
2013	9	27754	25625	0.076695595
2014	10	33627	26188	0.221212947
2015	11	27802	26758	0.037548311
2016	12	31640	27335	0.13606299
2017	13	24649	27919	0.132660826
2018	14	29310	28509	0.027322236
2019	15	27891	29106	0.043549127
2020	16	32098	29708	0.074453975
2021	17	30317	30317	3.11915E-09

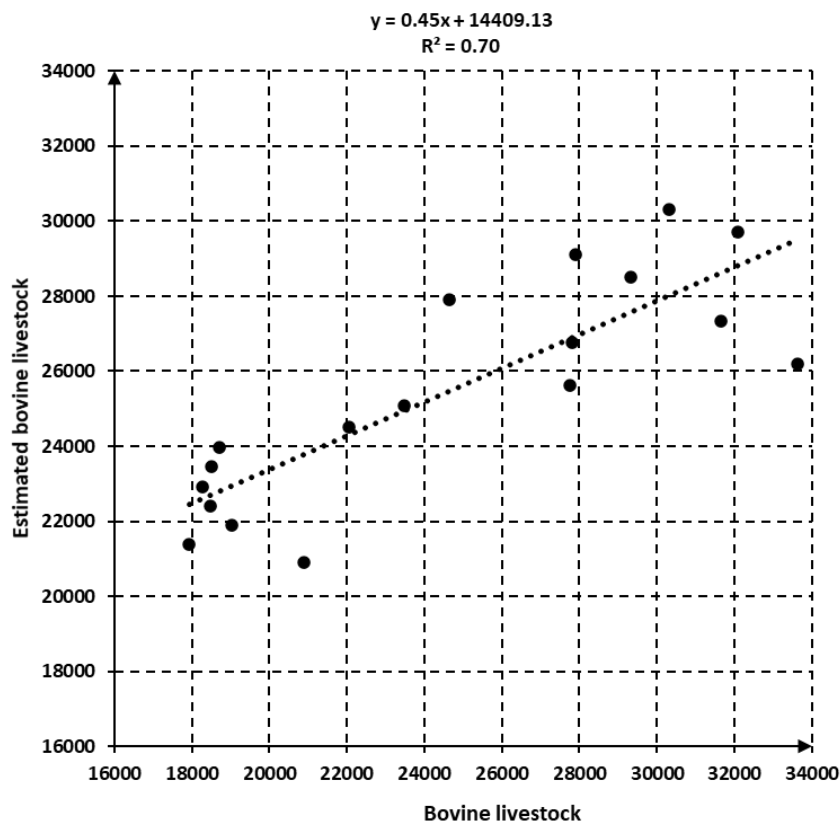


Figure A.5 Goodness of fit of the adjusted parameters r and K for ovine livestock

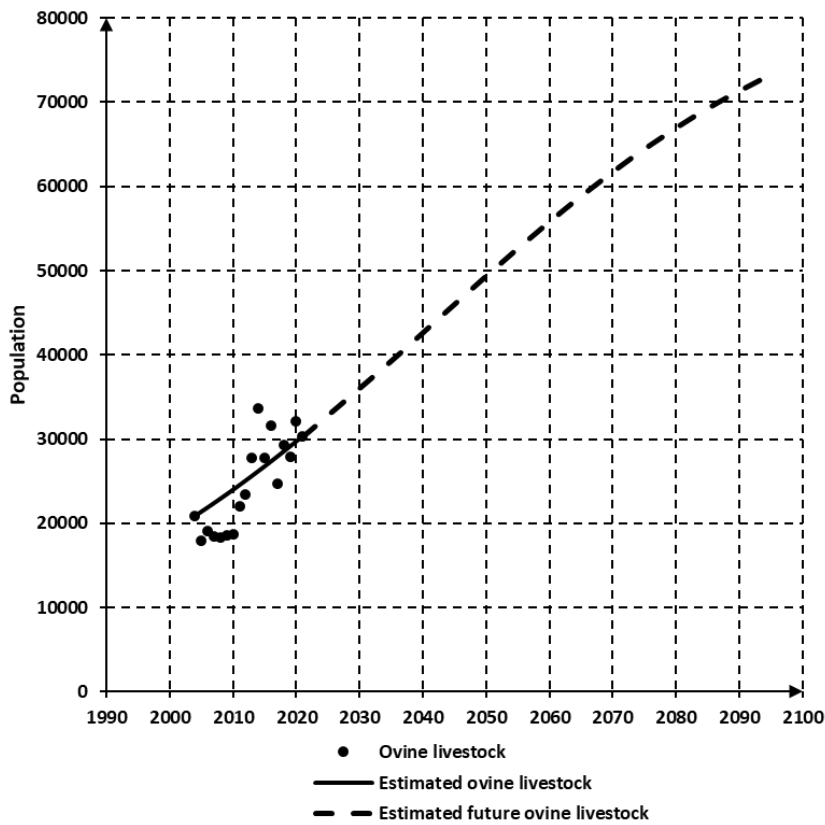


Figure A.6 Estimated population for the ovine livestock

Estimated population, bovine livestock and ovine livestock for the future are given in tables A.7, A.8 and A.9, respectively

Table A.7 Estimated population for the future

Year	Population
2035 (representing 2030's)	44221
2045 (representing 2040's)	48034
2055 (representing 2050's)	51711
2065 (representing 2060's)	55196
2075 (representing 2070's)	58444
2085 (representing 2080's)	61426
2095 (representing 2090's)	64124

Table A.8 Estimated bovine livestock for the future

Year	Bovine livestock
2035 (representing 2030's)	15705
2045 (representing 2040's)	16386
2055 (representing 2050's)	16728
2065 (representing 2060's)	16894
2075 (representing 2070's)	16973
2085 (representing 2080's)	17011
2095 (representing 2090's)	17029

Table A.9 Estimated ovine livestock for the future

Year	Ovine livestock
2035 (representing 2030's)	39335
2045 (representing 2040's)	46065
2055 (representing 2050's)	52681
2065 (representing 2060's)	58890
2075 (representing 2070's)	64469
2085 (representing 2080's)	69288
2095 (representing 2090's)	73311

Appendix B

Travel time in the streams

Manning equation is given in Equation B.1

$$v = \frac{\sqrt{J}}{n} \cdot R^{\frac{2}{3}} \quad (\text{B.1})$$

$$Q = \frac{\sqrt{J}}{n} \cdot R^{\frac{2}{3}} \cdot A \quad (\text{B.2})$$

where v = cross-sectional average velocity (ms^{-1}), J = slope, R = hydraulic radius (m), Q = Flow of the stream (m^3s^{-1}), A = cross-sectional area (m^2), n = Manning's Roughness Coefficient.

$$Q = \frac{\sqrt{J}}{n} \cdot R^{\frac{2}{3}} \cdot D \cdot W \quad (\text{B.3})$$

$$R = \frac{A}{P} \quad (\text{B.4})$$

$$R = \frac{W \cdot D}{W + 2D} \quad (\text{B.5})$$

$$D \ll W \quad (\text{B.6})$$

$$W + 2D \sim W \quad (\text{B.7})$$

$$R = \frac{W \cdot D}{W} \approx D \quad (\text{B.8})$$

$$R = D \quad (\text{B.9})$$

$$\frac{Q}{W} = \frac{\sqrt{J}}{n} \cdot D^{\frac{2}{3}} \cdot D \quad (\text{B.10})$$

$$\frac{Q}{W} = \frac{\sqrt{J}}{n} \cdot D^{\frac{5}{3}} \quad (\text{B.11})$$

The depth of the water channel (D) is considered much less than the width of the water channel (W) (Equation B.4-6), and the hydraulic radius is approximated by the depth of the water channel (Equation B.7-9). The Manning equation was applied by accepting that the roughness coefficient n was constant ($n=0.035$ for natural streams) and did not change along the stream. Using Equation B.10 results in the depth of the water channel (Equation B.11); subsequently, all these equations were substituted in Equation B.1, and the final equation to calculate the stream's average velocity ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) was obtained.

Appendix C

Salt Mass Balance

It has been accepted that there is only diffusion in terms of transport mechanism, the Mediterranean Sea water entering the hypolimnion layer comes out of the epilimnion layer, and yearly average evaporation and precipitation is equal in the lake.

The salinity of the Mediterranean Sea (S_M) at the lake's entrance was taken as 30 ppt¹. While the average salinity of the lake at the epilimnion (S_E) is 3 ppt, it is 10 ppt at the hypolimnion (S_H).

Defining the terms as Q_W = Total inflow from the basin (m^3d^{-1}), Q_P = Flow from precipitation (m^3d^{-1}), Q_E = Flow from evaporation (m^3d^{-1}), Q_M = inflow from Mediterranean Sea (m^3d^{-1}), Q_O = Total outflow from the basin (m^3d^{-1}), S_E = Salinity of the epilimnion (ppt), S_H =Salinity of the hypolimnion (ppt), S_M =Salinity of the Mediterranean Sea (ppt), $E_{E,H}$ = Diffusion from hypolimnion to epilimnion (m^3d^{-1}), Equations C.1 to 10 are written;

$$Q'_O = Q_W + Q_P - Q_E \quad (C.1)$$

$$Q_O = Q'_O + Q_M \quad (C.2)$$

$$Q_O = Q_W + Q_P - Q_E + Q_M \quad (C.3)$$

$$\frac{dS_E}{dt} = Q_M \cdot S_H - Q_O \cdot S_E + E_{E,H} \cdot (S_H - S_E) \quad (C.4)$$

$$\frac{dS_H}{dt} = Q_M \cdot S_M - Q_M \cdot S_H + E_{E,H} \cdot (S_E - S_H) \quad (C.5)$$

$$Q_M \cdot S_H - Q'_O \cdot S_E - Q_M \cdot S_E + E_{E,H} \cdot (S_H - S_E) = 0 \quad (C.6)$$

$$(S_H - S_E) \cdot Q_M + (S_H - S_E) \cdot E_{E,H} = Q'_O \cdot S_E \quad (C.7)$$

$$(S_M - S_H) \cdot Q_M + (S_E - S_H) \cdot E_{E,H} = 0 \quad (C.8)$$

$$(S_M - S_H) \cdot Q_M = (S_H - S_E) \cdot E_{E,H} \quad (C.9)$$

$$E_{E,H} = \frac{S_M - S_H}{S_H - S_E} \cdot Q_M \quad (C.10)$$

¹ Gürel, M. (2000). Nutrient dynamics in coastal lagoons: Dalyan Lagoon case study. [dissertation]: İTÜ.



Occurrence of *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1792) (Aulopidae) in the Turkish Aegean Sea (Sığacık Bay, E. Mediterranean)

Okan AKYOL

Cite this article as:

Akyol, O. (2023). Occurrence of *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1972) (Aulopidae) in the Turkish Aegean Sea (Sığacık Bay, E. Mediterranean). Aquatic Research, 6(3), 227-232. <https://doi.org/10.3153/AR23021>

Ege University Faculty of Fisheries
35440 Urla, İzmir, Türkiye

ORCID IDs of the author(s):

O.A. 0000-0001-7738-2156

ABSTRACT

Three specimens of *A. filamentosus* were captured by recreational anglers off Sığacık Bay, İzmir, at a depth of 220 m on 22 March 2023. The total length of these specimens was between 255 and 310 mm. Thus, the certain record number has reached at least twenty specimens in the Turkish seas. This paper presents the fifth confirmed record of *A. filamentosus* from the southeastern Aegean Sea. Though the sporadic occurrences of this species in the Aegean Sea do not indicate an established population for the time being, it signs that it is becoming abundant.

Keywords: Royal flagfin, Deep Sea fishing, Rarity, Sığacık Bay, İzmir

Submitted: 13.04.2023

Revision requested: 24.05.2023

Last revision received: 09.06.2023

Accepted: 12.06.2023

Published online: 13.07.2023

Correspondence:

Okan AKYOL

E-mail: okan.akvol@ege.edu.tr



© 2023 The Author(s)

Available online at
<http://aquatres.scientificwebjournals.com>

Introduction

The Aulopidae family consists of fifteen valid species, of which only one is in the Mediterranean (Froese & Pauly, 2023). Royal flagfin, *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1792), is a marine demersal fish at 50-1000 m depths, usually 100-200 m (Froese & Pauly, 2023).

It is distributed from Morocco to Mauritania, Madeira and Canaries, Senegal, the western central Atlantic, the Gulf of Mexico and the Caribbeans, and recorded from the Mediterranean (Golani et al., 2006; Froese & Pauly, 2023).

In the central Mediterranean Sea, some records of *A. filamentosus* have been documented from off Tunisia (Bradai et al., 2004; Ben Souissi et al., 2010; Karachle et al., 2015), Libya (Al-Hassan & El-Silini, 1999; Elbaraasi et al., 2019), and the Adriatic Sea (Dulčić, 2006).

In the eastern Mediterranean, *A. filamentosus* from Turkish waters of the Mediterranean Sea was reported first in 1954 (Akşiray, 1954), and then, this species has been listed only by

name on various checklists (Golani, 1996; Saad, 2005; Papaconstantinou, 2014; Bilecenoglu et al., 2014; Akel & Karachle, 2017; Bariche and Fricke, 2020). However, few studies on this species confirmed, as shown in Table 1. This paper provides an additional record of rare *A. filamentosus* from the Aegean and the eastern Mediterranean Sea.

Material and Methods

On 22 March 2023, three specimens (two males and one female) of *Aulopus filamentosus* (Figure 1) were captured by anglers off Sığacık Bay, Izmir (coordinates: 38°07'16"N and 26°51'46"E), at a depth of 220 m (Figure 2). The bait was Mediterranean mud shrimp. Morphometric measurements were recorded to the nearest millimetre on fresh specimens. The specimens were preserved in 6% buffered formalin and deposited in the Ichthyological Collection of the Fisheries Faculty, Ege University, under the ESFM-PIS/2023-01 catalogue number.



Figure 1. Male (above) and female (below) *Aulopus filamentosus* specimens caught from Sığacık Bay, Izmir, southern Aegean Sea

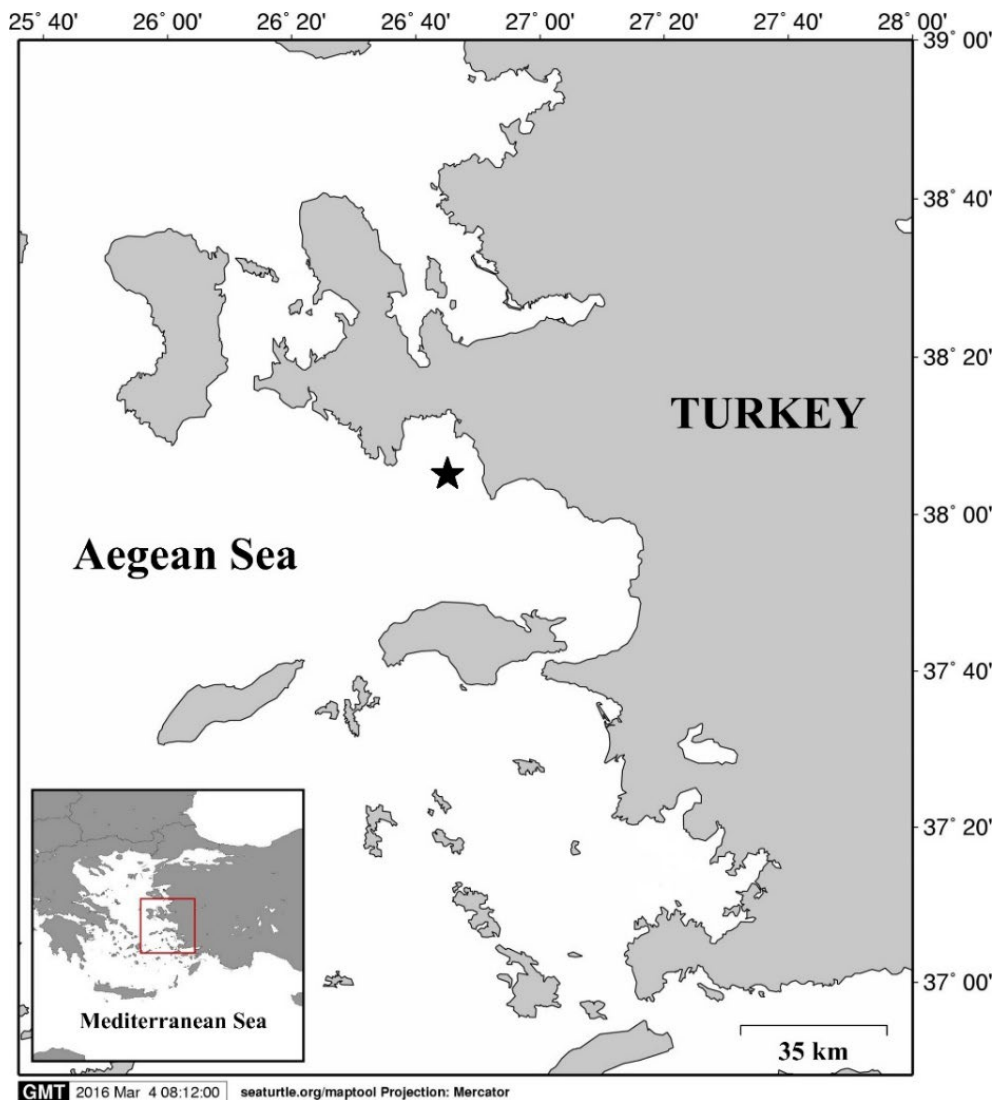


Figure 2. Capture site (black star) of *Aulopus filamentosus* in the Aegean Sea

Table 1. Successive confirmed records of *Aulopus filamentosus* in the eastern Mediterranean Sea

Location	Depth (m)	Record Date	Number collected	Size (TL, mm)	References
Gökova Bay, SE Aegean Sea	?	July 2003-Mar.2004	?	?	Öziç & Yılmaz (2006)
Babakale, NE Aegean Sea	?	Feb.2005	1	440	İşmen et al. (2006)
Anywhere, SE Aegean Sea	30-225	Oct.-Dec.2011	11	237-328	Yapıcı et al. (2015)
Mersin Bay, NE Med.	184	23 June 2015	3	230-290	Ergüden et al. (2018)
Gökçeada, NE Aegean Sea	150	4 Feb. 2017	1	369	Daban et al. (2017)
Sığacık Bay, SE Aegean Sea	220	22 March 2023	3	255-310	This study

Results and Discussion

The specimen was measured to the nearest millimetre (Table 2). *A. filamentosus* shows distinct sexual dimorphism that males have elongated dorsal rays. Also, an adipose fin is present, a conical head with large eyes whose diameter is half the head depth. All determined measurements and colour patterns are in accordance with the descriptions of Golani et al. (2006), İşmen et al. (2006), Ergüden et al. (2018) and Froese & Pauly (2023).

According to successive records, its population tends to rise in the eastern Mediterranean. Thus, the certain record number has reached at least twenty specimens in the Turkish seas.

Though the sporadic occurrences of this species in the Aegean Sea do not indicate an established population for the time being, it signs that it is becoming abundant.

Conclusion

The occurrence of *A. filamentosus* is probable to increase where deep-sea fishing is. Bio-ecology of this fish is not well-known due to its rarity, so further records are needed to understand better the life cycle of *A. filamentosus* in the Mediterranean. This ichthyologic note presents the incidental catch of *A. filamentosus* from a recreational angler from the southeastern Aegean Sea. At the same time, it is the fifth substantiated record of *A. filamentosus* from the Aegean Sea.

Table 2. Morphometric measurements and percentages of total length (TL%) of three specimens of *Aulopus filamentosus*, captured from Sığacık Bay, southern Aegean Sea

Sex	Male		Male		Female	
	mm	TL%	mm	TL%	mm	TL%
Morphometrics						
Total length (TL)	310		285		255	
Standard length (SL)	260	83.9	248	87.0	215	84.3
Fork length (FL)	281	90.6	258	90.5	224	87.8
Predorsal length	101	32.6	88	30.9	78	30.6
Preanal length	191	61.6	172	60.4	151	59.2
Prepectoral length	83	26.8	75	26.3	65	25.5
Maximum body depth	50	16.1	38	13.3	32	12.5
Preorbital length	22	7.1	19	6.7	18	7.1
Interorbital length	15	4.8	14	4.9	12	4.7
Head length	80	25.8	72	25.3	63	24.7
Eye diameter	18	5.8	17	5.9	16	6.3
Counts						
Dorsal fin		15		15		15
Anal fin		11		11		11
Pelvic fin		9		9		9
Pectoral fin		13		13		13

Compliance with Ethical Standards

Conflict of interest: The authors declare that for this article, they have no actual, potential, or perceived conflict of interest.

Ethics committee approval: Ethics committee approval is not required.

Funding disclosure: No financial sources were provided for this study.

Acknowledgements: The author thanks anglers Mr Erdem Akar-tepe and Mr Kemal Soylu, who caught the fish, for cooperating with Dr Halil Şen for bringing the fish to my attention.

Disclosure: -

References

- Akel, E.S.H., Karachle, P.K. (2017).** The marine ichthyofauna of Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 21(3), 81-116.
<https://doi.org/10.21608/ejabf.2017.4130>
- Akşıray, F. (1954).** Türkiye deniz balıkları tayin anahtarı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Araştırma Enstitüsü Yayınları (in Turkish).
- Al-Hassan, L.A.J. & El-Silini, O.A. (1999).** Checklist of bony fishes collected from the Mediterranean coast of Benghazi, Libya. *Revista de Biologia Marina y Oceanografía*, 34(2), 291-301.
- Bariche, M., Fricke, R. (2020).** The marine ichthyofauna of Lebanon: an annotated checklist, history, biogeography, and conservation status. *Zootaxa*, 4775 (1), 001-157.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4775.1.1>
- Ben Souissi, J., Ben Abdallah, L.G., Ben Amor, M.M., Ben Salem, M., Capapé, C. (2010).** Confirmed occurrence of the royal flagfish *Aulopus filamentosus* (Osteichthyes: Aulopidae) in Tunisian waters (Central Mediterranean). *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5(1), 157-161.
- Bilecenoğlu, M., Kaya, M., Cihangir, B., Çiçek, E. (2014).** An updated checklist of the marine fishes of Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 38, 901-929.
<https://doi.org/10.3906/zoo-1405-60>
- Bradaï, M.N., Quignard, J.P., Bouaïn, A., Jarboui, O., Ouannes-Ghorbel, A., Ben Abdallah, L., Zaouali, J., Ben Salem, S. (2004).** Ichthyofaune autochtone et exotique côtes tunisiennes: recensement et biogéographie (Autochthonous and exotic fish species of the Tunisian coasts: inventory and biogeography). *Cybium*, 28 (4), 315-328.
- Daban, İ.B., Çakır, K., Acarlı, D., İşmen, A. (2017).** Re-confirmed occurrence and northward expansion of the royal flagfish *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1792) from the Aegean Sea. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 34(3), 337-339.
<https://doi.org/10.12714/egejfas.2017.34.3.13>
- Dulčić, J. (2006).** On the record of the royal flagfin, *Aulopus filamentosus* (Pisces: Aulopidae), from the Adriatic Sea. *Annales, Series Historia Naturalis*, 16(2), 189-192.
- Elbaraasi, H., Elabar, B., Elaabidi, S., Bashir, A., Elsilini, O., Shakman, E., Azzurro, E. (2019).** Updated checklist of bony fishes along the Libyan coast (southern Mediterranean Sea). *Mediterranean Marine Science*, 20, 90-105.
<https://doi.org/10.12681/mms.15570>
- Erguden, D., Bayhan, Y. K., Erguden, S. A., Altun, A. (2018).** The occurrence of royal flagfin *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1792) in Mersin Bay (North -Eastern Mediterranean) Turkey. *Croatian Journal of Fisheries*, 76, 51-54.
<https://doi.org/10.2478/cjf-2018-0006>
- Froese, R., Pauly, D. (2023).** FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (02/2023) (accessed date: 04.04.2023).
- Golani, D. (1996).** The marine ichthyofauna of the eastern Levant-History, inventory and characterization. *Israel Journal of Zoology*, 42, 15-55.
- Golani, D., Öztürk, B., Başusta, N. (2006).** The fishes of the eastern Mediterranean. Turkish Marine Research Foundation, Publication No. 24, Istanbul. 259 p. ISBN: 975-8825-12-7
- İşmen, A., Yiğın, Ç., Çakır, F. (2006).** A new fish species for the Northern Aegean Sea Fauna; *Aulopus filamentosus* (Bloch, 1792). *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences*, 23, Supp.1/1, 95-97.
- Karachle, P., Başusta, A., Başusta, N., Bostancı, D., Buz, K., Girgin, H., Chater, I., Kokokiris, L., Konaş, S., Ktari, M.-H., Maravelias, C., Minos, G., Ozer, E., Romdhani, A., Tiralongo, F., Tibullo, D., Tserpes, G., Vasilakopoulos, P. (2015).** New Fisheries-related data from the Mediterranean Sea (April 2015). *Mediterranean Marine Science*, 16(1), 285-293.
<https://doi.org/10.12681/mms.1293>

Öziç, F., Yılmaz, F. (2006). An investigation of demersal fishes of Gökova Bay in Aegean Sea. *Ekoloji*, 58, 16-20.

Papaconstantinou C. (2014). Fauna Graeciae. An updated checklist of the fishes in the Hellenic Seas, Monographs on Marine Sciences, 7, Athens 2014, HCMR, 340 pp. ISBN: 978-960-9798-04-4

Saad, A. (2005). Check – list of Bony Fish Collected from the Coast of Syria. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 5, 99-106.

Yapıcı, S., Karachle, P.K., Filiz, H. (2015). First length–weight relationships of 11 fish species in the Aegean Sea. *Journal of Applied Ichthyology*, 31(2), 398-402.
<https://doi.org/10.1111/jai.12459>



Instructions to Reviewers and Authors

The journal "AQUATIC RESEARCH" establishes the highest standards of publishing ethics and benefits from the contents of the [International Committee of Medical Journal Editors \(ICMJE\)](#), [World Association of Medical Editors \(WAME\)](#), [Council of Science Editors \(CSE\)](#), [Committee on Publication Ethics \(COPE\)](#), [European Association of Science Editors \(EASE\)](#), [Open Access Scholarly and Publishers Association \(OASPA\)](#), and [Directory of Open Access Journals \(DOAJ\)](#).

All authors submitting their works to the "AQUATIC RESEARCH" journal for publication as original articles attest that the submitted works represent their authors' contributions and have not been copied or plagiarised in whole or in part from other works. The authors acknowledge that they have disclosed all and any actual or potential conflicts of interest with their work or its partial benefits. Similarly, the "AQUATIC RESEARCH" journal is committed to objective and fair double-blind peer-review of the submitted for publication works and to prevent any actual or potential conflict of interest between the editorial and review personnel and the reviewed material.

"AQUATIC RESEARCH" journal provides a platform for the open public discussion of the journal contents. To secure accountability and encourage sincere professional inputs without incivilities, the system is set up to require registration and logging to record information. Some website contents will be available without logging, but no peer review comments can be posted without disclosing the reviewer's identity to the journal editors.

Publication Decisions

The editor of the "AQUATIC RESEARCH" journal is responsible for deciding which of the articles submitted to the journal should be published. The editor may be guided by the policies of the journal's editorial board and constrained by such legal requirements as shall then be in force regarding libel, copyright infringement, and plagiarism. The editor may confer with other editors or reviewers in making this decision.

Fair Play

An editor at any time evaluates manuscripts for their intellectual content without regarding race, gender, sexual orientation, religious belief, ethnic origin, citizenship, or political philosophy of the authors.

Confidentiality

The editor and any editorial staff must not disclose any information about a submitted manuscript to anyone other than the corresponding author, reviewers, potential reviewers, other editorial advisers, and the publisher, as appropriate.

Disclosure and Conflicts of Interest

Unpublished materials disclosed in a submitted manuscript must not be used in an editor's research without the author's written consent.

Research Ethics

An approval of research protocols by the Ethics Committee by international agreements (World Medical Association Declaration of Helsinki "Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects," amended in October 2013, www.wma.net) is required for experimental, clinical, and drug studies. If needed, ethics committee reports or an equivalent official document will be requested from the authors.

For manuscripts concerning experimental research on humans, a statement should be included that shows the written informed consent of patients and volunteers was obtained following a detailed explanation of the procedures that they may undergo. Information on patient support, the



name of the ethics committee, and the ethics committee approval number should also be stated in the Materials and Methods section of the manuscript. It is the author's responsibility to protect the patient's anonymity carefully. For photographs that may reveal the identity of the patients, signed releases of the patient or their legal representative should be enclosed.

"AQUATIC RESEARCH" journal requires experimental research studies on vertebrates or any regulated invertebrates to comply with relevant institutional, national, and/or international guidelines. The journal supports the principles of the Basel Declaration (<https://animalresearchtomorrow.org/en>) and the guidelines published by the International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS) (<https://iclas.org/>). Authors are advised to state their compliance with relevant policies clearly.

"AQUATIC RESEARCH" journal advises authors to comply with the [IUCN Policy Statement on Research Involving Species at Risk of Extinction and the Convention on the Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora for research involving plants](#).

Plagiarism

Submitted manuscripts that pass preflight are scanned for plagiarism using iThenticate software. Authors will be notified if plagiarism/self-plagiarism is detected. Editors can resubmit the article for any peer review or similarity check during production, if necessary. High similarity scores can cause a report to be rejected before or even after it is accepted. Depending on the type of article and the percentage of similarity scores from each article, the overall similarity score is generally expected to be less than 20%.

Double-Blind Referee Evaluation

After the plagiarism check, the editors evaluate the appropriate ones in terms of originality, methodology, the importance of the subject, and suitability to the journal's scope. The editor directs the submitted articles to a fair double-blind peer review (presents the articles that comply with official rules to at least two national/international referees for evaluation) and approves by managing the processes for publication after the authors modify them by the referees' rules.

Open Access Statement

The journal is open-access; all its content is freely available to the user or institution. Users are permitted to read, download, copy, print, search, or link the full texts of articles in this journal without prior permission from the publisher or author. This conforms to the [Budapest Open Access Initiative](#) (BOAI) 's definition of open access.

Open-access articles in the journal are licensed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) license.

Article Processing Fee

All journal processes are free of charge. No article processing, submission, or publication fee is charged for submitted or accepted articles.

Copyright Notice

Authors publishing with the journal retain copyright to their work licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International license (CC BY 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), and Publisher maintains the exclusive right to publish the work. The CC BY 4.0 license permits unlimited distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

The copyright of any open-access article in the "AQUATIC RESEARCH" journal published on the "ScientificWebJournals" web portal hosted by "[DergiPark](#)" belongs to the author(s).

Author's Responsibilities

Reporting Standards

Authors should present an accurate account of the work performed and an objective discussion of the significance of the reports of original research. Underlying data should be represented accurately in the paper. The Manuscript should contain sufficient detail and references to permit others to replicate the work. Fraudulent or knowingly inaccurate statements constitute unethical behaviour and are unacceptable.

Data Access and Retention

Authors are asked to provide the raw data in connection



with a paper for editorial review. They should be prepared to provide public access to such data (consistent with the [ALPSP-STM Statement on Data and Databases](#)).

Originality and Plagiarism

The authors should ensure that they have written entirely original works, and if they have used the work and/or words of others, they should be appropriately cited or quoted.

By submitting articles to the "AQUATIC RESEARCH" journal, the author attests to the following:

- Proper reference is provided for all contents extracted from other sources
- Strong action will be taken against cases of plagiarism
- All the papers submitted have to pass through an initial screening and will be checked through the Advanced Plagiarism Detection Software (iThenticate, etc.).

Multiple, Redundant, or Concurrent Publication

Authors should only publish manuscripts describing the same research in one journal or primary publication. Submitting the same manuscript to multiple journals concurrently constitutes unacceptable publishing behaviour.

Acknowledgement of Sources

Proper acknowledgement of the work of others must always be given. Authors should cite publications that have influenced the nature of the reported work.

Authorship of the Paper

Authorship should be limited to those who have contributed significantly to the conception, design, execution, or interpretation of the reported study. All those who have made significant contributions should be listed as co-authors. Where others have participated in certain substantive aspects of the research project, they should be acknowledged or listed as contributors.

The corresponding author should ensure that all appropriate co-authors and no inappropriate co-authors are included in the paper and that all co-authors have seen and

approved the article's final version and have agreed to its submission for publication.

Hazards and Human or Animal Subjects

If the work involves chemicals, procedures, or equipment with any unusual hazards inherent in their use, the author must identify these in the manuscript.

Disclosure and Conflicts of Interest

All authors should disclose in their manuscript any financial or other substantive conflicts of interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript. All sources of financial support for the project should be disclosed.

Fundamental Errors in Published Works

When an author discovers a significant error or inaccuracy in their published work, the author must promptly notify the journal editor or publisher and cooperate with the editor to retract or correct the paper.

Responsibility for the Editor and Reviewers

General duties and responsibilities of the editor;

- Actively seek the views of authors, readers, reviewers, and editorial board members about ways of improving their journal's processes
- Encourage and be aware of research into peer review and 'journal logs' and reassess journal processes in the light of new findings
- Work to persuade their publishers to provide them with appropriate resources, guidance from experts (e.g., designers, lawyers), and adequate training to perform their role professionally and raise the quality of their journal
- Support initiatives designed to reduce academic misconduct
- Support initiatives to educate researchers about publication ethics



- Assess the effects of their journal policies on author and reviewer behaviour and revise policies, as required, to encourage responsible behaviour and discourage misconduct
- Ensure that any press releases issued by the journal reflect the message of the reported article and put it into context

Duties of Reviewers

Contribution to Editorial Decisions: Peer review assists the editor in making editorial decisions and, through editorial communications with the author, may also assist the author in improving the paper.

Promptness: Any selected referee who feels unqualified to review the research reported in a manuscript or knows its prompt review will be impossible should notify the editor and excuse himself from the review process.

Confidentiality: Any manuscripts received for review must be treated as confidential documents. They must not be shown to or discussed with others except as authorised by the editor.

Standards of Objectivity: Reviews should be conducted objectively. Personal criticism of the author is inappropriate. Referees should express their views clearly with supporting arguments.

Acknowledgement of Sources: Reviewers should identify relevant published work that the authors have not cited. Any statement that an observation, derivation, or argument had been previously reported should be accompanied by the appropriate citation. A reviewer should also call to the editor's attention any substantial similarity or overlap between the manuscript under consideration and any other published paper they know personally.

Disclosure and Conflict of Interest: Privileged information or ideas obtained through peer review must be kept confidential and not used for personal advantage. Reviewers should not consider articles with conflicts of interest arising from competition, cooperation, or other relationships or affiliations with any authors, companies, or institutions affiliated with the articles. They should withdraw from the peer review process.

Rules that Authors Must Follow in Submitting Articles

All submissions are screened by similarity detection software. The similarity rate in the articles sent to the journal should be below 20%.

In the event of alleged or suspected research misconduct, e.g., plagiarism, citation manipulation, and data falsification/ fabrication, the Editorial Board will follow and act by [COPE](#) guidelines.

Everyone listed as an author should fulfil the authorship criteria recommended by the [ICMJE](#). The ICMJE suggests that authorship be based on the following four criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; AND
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content; AND
3. Final approval of the version to be published; AND
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

In addition to being accountable for the parts of their work, an author should be able to identify which co-authors are responsible for specific aspects of the work. In addition, authors should have confidence in the integrity of the contributions of their co-authors.

All those designated as authors should meet all four criteria for authorship, and all who meet the four criteria should be identified as authors. The manuscript's title page should acknowledge those meeting only some of the four standards.



“AQUATIC RESEARCH” journal requires corresponding authors to submit a signed and scanned version of the copyright transfer, ethics, and authorship contribution form (available for download at

<https://dergipark.org.tr/en/download/journal-file/19583>)

during the initial submission process, act appropriately on authorship rights and prevent ghost or honorary authorship. If the editorial board suspects a “gift authorship” case, the submission will be rejected without further review. As part of the submission of the manuscript, the corresponding author should also send a short statement declaring that they accept to undertake all the responsibility for authorship during the submission and review stages of the manuscript.

“AQUATIC RESEARCH” journal requires and encourages the authors and the individuals involved in the evaluation process of submitted manuscripts to disclose any existing or potential conflicts of interest, including financial, consultant, and institutional, that might lead to potential bias or a conflict of interest. Any financial grants or other support received for a submitted study from individuals or institutions should be disclosed to the Editorial Board. To declare a potential conflict of interest, the [ICMJE](#) Potential Conflict of Interest Disclosure Form should be filled in and submitted by all contributing authors. The journal's Editorial Board resolves cases of a potential conflict of interest between the editors, authors, or reviewers within the scope of [COPE](#) and [ICMJE](#) guidelines.

Authors must obtain permission from the copyright holder when using previously published content, including figures, tables, or any other material in both print and electronic formats. Legal, financial, and criminal liabilities belong to the author(s).

Statements or opinions expressed in the manuscripts published in the “Aquatic Research” journal reflect the views of the author(s) and not the opinions of the editors, the editorial board, or the publisher, who disclaim any responsibility or liability for such materials. The final responsibility regarding the published content rests with the authors.

Manuscript Preparation

Manuscripts can only be submitted through the journal's online manuscript submission and evaluation system, available at <http://dergipark.gov.tr/journal/2277/submission/start>.

Manuscripts submitted to the journal will first go through a technical evaluation process. The editorial office staff will ensure the manuscript has been prepared and submitted by the journal's guidelines. Submissions that do not conform to the journal's guidelines will be returned to the submitting author with technical correction requests.

Authors are required to submit the following forms during the initial submission.

- Copyright Transfer, Ethic, Authorship Contribution Forms (one pdf file available from <https://dergipark.org.tr/en/download/journal-file/19583>)
- ICMJE Potential Conflict of Interest Disclosure Form (should be filled in by all contributing authors) Download this form from <http://www.icmje.org/conflicts-of-interest/> fill and save. Send this to the journal with your other files.

Preparation of the Manuscript

Manuscripts prepared in Microsoft Word must be converted into a single file before submission. Please start with the title page and insert your graphics (schemes, figures, etc.) and tables in the one main text (word office file).

Title (should be clear, descriptive, and not too long)

Full Name(s) and Surname (s) of author(s)

ORCID ID for all author (s) (<http://orcid.org/>)

Authors complete correspondence Address (es) of affiliations and e-mail (s)

Abstract

Keywords (indexing terms), usually 3-6 items

Introduction



- Material and Methods**
- Results and Discussion**
- Conclusion**
- Compliance with Ethical Standards**

- **Conflict of Interest:** When you (or your employer or sponsor) have a financial, commercial, legal, or professional relationship with other organisations or people working with them, a conflict of interest may arise that may affect your research. A full description is required when you submit your article to a journal.
- **Ethics committee approval:** Ethical committee approval is routinely requested from every research article based on experiments on living organisms and humans. Sometimes, studies from different countries may not have the ethics committee’s approval, and the authors may argue that they do not need support for their work. In such situations, we consult COPE’s “Guidance for Editors: Research, Audit, and Service Evaluations” document and evaluate the study at the editorial board and decide whether or not it needs approval.
- **Funding:** If there is any, the institutions that support the research and the agreements with them should be given here.
- **Acknowledgment:** Acknowledgments allow you to thank people and institutions who assist in conducting the research.
- **Disclosure:** Explanations about your scientific / article work that you consider ethically important.

References

- Tables (all tables given in the main text)**
- Figures (all figures/photos given in the main text)**

Manuscript Types

Original Articles: This is the most important type of article since it provides new information based on original research. **The main text should contain “Introduction”, “Materials and Methods”, “Results and Discussion”, “Conclusion”, “Compliance with Ethical Standards”, and “References” sections.**

Statistical analysis to support conclusions is usually necessary. International statistical reporting standards

must conduct statistical analyses. Information on statistical analyses should be provided with a separate sub-heading under the Materials and Methods section, and the statistical software used during the process must be specified.

Units should be prepared by the International System of Units (SI).

Review Articles: Reviews prepared by authors with extensive knowledge of a particular field and whose scientific background has been translated into a high volume of publications with a high citation potential are welcomed. The journal may even invite these authors. Reviews should describe, discuss, and evaluate the current knowledge level of a research topic and should guide future studies. The main text should start with the Introduction and end with the Conclusion sections. Authors may choose to use any subheadings in between those sections.

Short Communication: This type of manuscript discusses important parts, overlooked aspects, or lacking features of a previously published article. Articles on subjects within the journal’s scope that might attract the readers’ attention, particularly educative cases, may also be submitted in the form of a “Short Communication”. Readers can also present their comments on the published manuscripts in the form of a “Short Communication”. The main text should contain **“Introduction”, “Materials and Methods”, “Results and Discussion”, “Conclusion”, “Compliance with Ethical Standards”, and “References”** sections.

Table 1. Limitations for each manuscript type

Type of manuscript	Page	Abstract word limit	Reference limit
Original Article	≤25	180	40
Review Article	no limits	180	60
Short Communication	≤5	150	20



Tables

Tables should be included in the main document and presented after the reference list, and they should be numbered consecutively in the order they are referred to within the main text. A descriptive title must be placed above the tables. Abbreviations in the tables should be defined below them by footnotes (even if they are defined within the main text). Tables should be created using the “insert table” command of the word processing software and arranged clearly to provide easy reading. Data presented in the tables should not be a repetition of the data presented within the main text but should support the main text.

Figures and Figure Legends

Figures, graphics, and photographs should be submitted in main document WORD files (in JPEG or PNG format) through the submission system. Any information within the images that may indicate an individual or institution should be blinded. The minimum resolution of each submitted figure should be 300 DPI. To prevent delays in the evaluation process, all submitted figures should be clear in resolution and large (minimum dimensions: 100 × 100 mm). Figure legends should be listed at the end of the primary document.

All acronyms and abbreviations used in the manuscript should be defined at first use, both in the abstract and in the main text. The abbreviation should be provided in parentheses following the definition.

When a drug, product, hardware, or software program is mentioned within the main text, product information, including the name of the product, the producer of the product, and city and the country of the company (including the state if in the USA), should be provided in parentheses in the following format: “Discovery St PET/CT scanner (General Electric, Milwaukee, WI, USA).”

All references, tables, and figures should be referred to within the main text and numbered consecutively in the order they are referred to within it.

Limitations, drawbacks, and shortcomings of original articles should be mentioned in the Discussion section before the conclusion paragraph.

References

Reference System is APA 6th Edition (with minor changes)

The APA style calls for three kinds of information to be included in in-text citations. The author's last name and the work's publication date must always appear, and these items must match exactly the corresponding entry in the references list. The third kind of information, the page number, appears only in a citation to a direct quotation.

- ...(Bhujel, 2014).
- ...(Mol & Erkan, 2009).
- ...(Alofa et al., 2023).
- ...(Mol & Erkan, 2009; Bhujel, 2014; Alofa et al., 2023).

Citations for a Reference Section:

An article

Alofa, C.S., Olodo, I.Y., Chabi Kpéra Orou Nari, M., Abou, Y. (2023). Effects of the fresh and dried housefly (*Musca domestica*) larvae in the diets of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758): growth, feed utilisation efficiency, body composition, and biological indices. *Aquatic Research*, 6(1), 1-10.
<https://doi.org/10.3153/AR23001> (if DOI number has)

A book in print

Bhujel, R.C. (2014). A manual for tilapia business. CABI Nosworthy Way Wallingford Oxfordshire OX10 8DE UK, 199 p. ISBN 978-1-78064-136-2.
<https://doi.org/10.1079/9781780641362.0000> (if DOI number has)

A book chapter

Craddock, N. (1997). Practical management in the food industry A case study. In Food Allergy Issues for the Food Industry; Lessof, M., Ed.; Leatherhead Food RA: Leatherhead, U.K., pp 25-38. ISBN: 4546465465

A webpages

CDC (2020). Rift Valley Fever | CDC.
<https://www.cdc.gov/vhf/rvf/index.html> (accessed 20.08.2020).



**AQUATIC
RESEARCH**
E-ISSN 2618-6365

Revisions

When submitting a revised version of a paper, the author must submit a detailed “Response to the reviewers” that states point by point how each issue raised by the reviewers has been covered and where it can be found (each reviewer’s comment, followed by the author’s reply and line numbers where the changes have been made) as well as an annotated copy of the main document. Revised manuscripts must be submitted within 15 days from the date of the decision letter. If the revised version of the manuscript is not submitted within the allocated time, the revision op-

tion may be cancelled. If the submitting author(s) believe that additional time is required, they should request this extension before the initial 15-day period is over.

Accepted manuscripts are copy-edited for grammar, punctuation, and format. Once the publication process of a manuscript is completed, it is published online on the journal’s webpage as an ahead-of-print publication before it is included in its scheduled issue. A PDF proof of the accepted manuscript is sent to the corresponding author, and their publication approval is requested within two days of their receipt of the proof.