

Acta Aquatica Turcica

**Türk Su Bilimleri
Dergisi**



2023

Vol:19 Number:3 | Cilt:19 Sayı:3

e-ISSN: 2651-5474

Yayın Tarihi: Eylül - 2023

ACTA AQUATICA TURCICA
TÜRK SU BİLİMLERİ DERGİSİ
E-ISSN: 2651-5474

(YIL: 2023 – CİLT: 19 – SAYI: 3)

Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi
Adına Sahibi /
Owner of Behalf of Isparta University of Applied Sciences, Eğirdir Fisheries Faculty

Aysegül KUBİLAY

Baş Editör / Editor in Chief

Yunus Ömer BOYACI

Editörler / Editors

Şengül BİLGİN
Nalan Özgür YİĞİT
Seçil METİN
Mustafa CEYLAN
Salim Serkan GÜÇLÜ
Viktoras LIORANČAS
Tom WIKLUND
Aynur LÖK
Ercüment GENÇ
Selda TEKİN ÖZAN
Hüseyin SEVGİLİ
Mehmet CİLİZ
Nezire Lerzan ÇİÇEK
Gürkan DİKEN
Öznur ÖZİL
Mehmet Arif ZORAL
Hüseyin KÜÇÜKTAŞ
Laith A. JAWAD
Stamatis ZOGARIS

Mizanpaj Editörleri / Layout Editors

Deniz KARA
Ergi BAHRİOĞLU

İletişim / Contact

Acta Aquatica Turcica
Yayın Komisyonu Başkanlığı,
32260 Doğu Yerleşkesi-ISPARTA
Tel: 0 246 2146401 Faks: 0 246 2146445
<http://dergipark.org.tr/actaquatr>
E-Posta: actaquatr@isparta.edu.tr

E-ISSN: 2651-5474

Yayın Tarihi: Eylül - 2023

ACTA AQUATICA TURCICA
E-ISSN: 2651-5474
(YIL: 2023 – CİLT: 19 – SAYI: 3)

YAYIN KURULU / EDITORIAL BOARD*

Altan LÖK	Ege University, TÜRKİYE
Doru Stelian BĂNĂDUC	Lucian Blaga” University of Sibiu, ROMANIA
Ercüment GENÇ	Ankara University, TÜRKİYE
Erdoğan ÇIÇEK	Nevşehir Hacı Bektaş Veli University, TÜRKİYE
Erik JEPPESEN	Aarhus University, DENMARK
Eugenia BEZİRTZOGLU	Democritus University of Thrace, GREECE
Hamid Reza ESMAEILI	Shiraz University IRAN
Karim ERZINI	University of Algarve, PORTUGAL
Magdolna Müllerne TRENOVSZKI	Szent Istvan University, HUNGARY
Özkan ÖZDEN	İstanbul University, TÜRKİYE
Pavel KOZAK	University of South Bohemia, CZECHIA
Stamatis ZOGARİS	Hellenic Centre for Marine Reseaech, GREECE
Stefan BERGLEITER	Naturland, GERMANY
Süheyla KARATAŞ STEINUM	İstanbul University, TÜRKİYE
Tom WİKLUND	Åbo Akademi University, FINLAND
Viladimir PESIC	University of Montenegro, MONTENEGRO
Yazdan KEIVANY	Isfahan University of Technology, IRAN
Laith A. JAWAD	United Institute of Technology, NEW ZELAND

* Liste akademik unvan ve isme göre alfabetik sırayla hazırlanmıştır.

İÇİNDEKİLER / CONTENTS

ARAŞTIRMA MAKALELERİ / RESEARCH ARTICLES:

Hirudinea Fauna of Lake Karagöl (Sındırı-Balıkesir) and Lake Gölcük (Bigadiç-Balıkesir): A New Record for Türkiye Mustafa Ceylan.....	209-217
Physicochemical properties of sprat (<i>Sprattus sprattus</i>) protein hydrolysate and usage as a coating material on trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) fillets Gülsüm Balçık Misir, Büket Buşra Dağtekin, Sebahattin Kutlu.....	218-234
Length-weight relationship and condition factor of the <i>Mastacembelus simack</i> (Bank & Solander, 1794) at different locations on the (Tigris and Murat rivers) Türkiye Mustafa Koyun, Nurgül Şen-Özdemir, Fatma Caf.....	235-245
Diyetsel gümüş nanopartikülün Gökkuşağı Alabalığının (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) yetiştircilik parametreleri ve yüksek sıcaklık toleransına etkisi Özgür Uçaş, Ece Evliyaoglu, Hüseyin Sevgili, Esin Akarsu, Siti Nur Insyirah Noor Izam, Hatice Asuman Yılmaz, Orhan Tufan Erdogan.....	246-256
Keban Baraj Gölü sportif olta balıkçılığı alabalık turnuvası değerlendirmesi: Av kompozisyonu ve verimi Tuncay Ateşahin, Mehmet Cilbiz.....	257-265
Farklı ağaç talaşları ile dumanlanmanın Türk Somonunun duyusal ve mikrobiyolojik kalitesine etkileri Şengül Bilgin, Levent İzci, Göknur Sürengil, Fahriye Umut.....	266-276
Gökkuşağı Alabalıklarında (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) <i>Staphylococcus warneri</i> 'nin teşhis ve histopatolojisi Öznur Diler, Hasan Emre Yılmaz, İfakat Tülay Çağatay, Mevlüt Naziroğlu, Öznur Özil, Seydanur Kan.....	277-288

Hirudinea Fauna of Lake Karagöl (Sındırgı-Balıkesir) and Lake Gölcük (Bigadiç-Balıkesir): A New Record for Türkiye

Karagöl (Sındırgı-Balıkesir) ve Gölcük Gölü (Bigadiç-Balıkesir) Hirudinea Faunası: Türkiye için Yeni Bir Kayıt

Mustafa Ceylan^{1,2,*} 

¹Department of Basic Science, Faculty of Eğirdir Fisheries, Isparta University of Applied Sciences, Isparta, Türkiye

²Medicinal Leech Application and Research Center, Isparta University of Applied Sciences, Isparta, Türkiye

*Corresponding Author: mustafaceylan@isparta.edu.tr

Received: 04.02.2022

Accepted: 19.07.2023

Published: 01.09.2023

How to Cite: Ceylan, M. (2023). Hirudinea Fauna of Lake Karagöl (Sındırgı-Balıkesir) and Lake Gölcük (Bigadiç-Balıkesir): A New Record for Türkiye. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 209-217. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1068061>

Abstract: This study was carried out to determine the Hirudinea fauna to Lake Karagöl (Sındırgı-Balıkesir, Türkiye) and Lake Gölcük (Bigadiç-Balıkesir, Türkiye), which has not been found in any limnological studies before. It was determined the species of *Placobdella costata*, *Helobdella stagnalis*, *Hirudo verbana*, *Haemopis sanguisuga* and *Dina punctata* in Lake Karagöl and *P. costata*, *Glossiphonia concolor*, *Dina lineata* and *D. punctata* in Lake Gölcük. According to the findings of the present study *Dina punctata* was reported for the first time in the Turkish Hirudinea fauna.

Özet: Bu çalışma, daha önce herhangi bir limnolojik çalışmaya rastlanmayan Karagöl (Sındırgı-Balıkesir) ve Gölcük Gölü (Bigadiç-Balıkesir)'nın Hirudinea faunasının belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma ile Karagöl'de *Placobdella costata*, *Helobdella stagnalis*, *Hirudo verbana*, *Haemopis sanguisuga* ve *Dina punctata*, Gölcük Gölü'nde ise *P. costata*, *Glossiphonia concolor*, *Dina lineata* ve *D. punctata* türleri tespit edilmiştir. Bu türlerden *D. punctata* Türkiye Hirudinea faunası için ilk kez rapor edilmiştir.

Keywords

- Limnology
- *Dina punctata*
- First record

Anahtar kelimeler

- Limnoloji
- *Dina punctata*
- İlk kayıt

1. INTRODUCTION

Leeches have been on the agenda of humanity since ancient times. It is known that bloodletting was recommended by Hippocrates in the 5th century BC (Thearle, 1998). Leeches are parasitic on mammals, fish, amphibians, birds and reptiles and are also among the diet of fish, crayfish, birds, aquatic insects and other leech species (Sawyer, 1986). Since leeches can be found in a wide ecological range, it is not sufficient to evaluate them alone in water quality monitoring studies (Neubert and Nesemann, 1999; Kazancı et al., 2009). However, since using more species to monitor the water quality provides more reliable results, it is recommended to include Hirudinea members in the assessment of the water quality (Metcalfe et al., 1988; Bendell and McNicol, 1991; Scrimgeour et al., 1998; Ahmad et al., 2002; Koperski, 2005; Kazancı et al., 2009). Several countries include various leech species as water quality monitoring tools in line with the Water Framework Directive (Tempelman, 2008).

In parallel with intensive agricultural activities, deforestation, industry, urbanization, domestic wastes and improper land use, changes and degradation occur in the physicochemical properties and biodiversity of aquatic environments (Adla et al., 2022). These changes cause significant changes in the qualitative and quantitative distribution of all ecosystems and aquatic organisms in particular (Kang et al., 2023). However, the efficient and rational evaluation of the ecological change process is closely linked to the knowledge of biological diversity (Yoccoz et al., 2001).

The first report of leech fauna in inland waters of Türkiye was made by Deveciyan (1915), who



reported the presence of medicinal leech (*Hirudo* sp.) in Bursa Yenişehir Lake. The first report of leeches in the history of the Republic of Türkiye was made by Geldiay (1949) from Lake Eymir with the species *Hirudo medicinalis* and *Placobdella catenigera* (Syn: *Placobdella costata*). Following these studies, many studies have been carried out on the leech fauna in the wetlands of Türkiye. The first records for the wetlands of our country were reported by Sağlam (2001) for *P. costata*, Sağlam and Dörücü (2002) for *Helobdella stagnalis*, and Kazancı et al. (2009) for *Erpobdella vilnensis*. New species for the literature from the wetlands of our country were *Dina vignai* (Minelli, 1978), *Batracobdella euxina* (Neubert and Nesemann, 1995) and *Hirudo sulukii* (Sağlam et al., 2016).

With this study, it was aimed to contribute to the biodiversity of Türkiye by determining the Hirudinea fauna of Lake Karagöl (Sındırı-Balıkesir) and Lake Gölcük (Bigadiç-Balıkesir), where no limnological study was found.

2. MATERIAL and METHODS

2.1. Study schedule

This study was carried out on 22.06.2012 and 11.07.2022.

2.2. Study field

This study was conducted in Lake Karagöl and Lake Gölcük. Lake Karagöl is located in Sındırı (Balıkesir) district. With an altitude of 1020 m, the lake is located at the coordinates $39^{\circ}19'12.5''N$ $28^{\circ}30'46.7''E$ and extends in the east-west direction. It is 59 km from Sındırı district center. The surface area of the lake is approximately 3 ha and the entire surface except the littoral zone is covered with lotus leaves. There are orchards around the lake and therefore the lake is used for irrigation purposes.

Lake Gölcük is located in Bigadiç (Balıkesir) district. The lake, which is 830 m above sea level, is located at the coordinates $39^{\circ}20'19.7''N$ $28^{\circ}29'05.0''E$ and extends in the southwest-northeast direction. The lake is 46 km from Bigadiç district center, and its surface area is approximately 1 ha. The vegetation is predominantly reed plants; however, due to the excavation works, open water surfaces (lake mirrors) have been formed in places in the lake. The lake water is used for irrigation of the surrounding gardens. Lakes studied are connected to each other by a 9 km stabilized road. The locations of the lakes on the map are given in Figure 1.

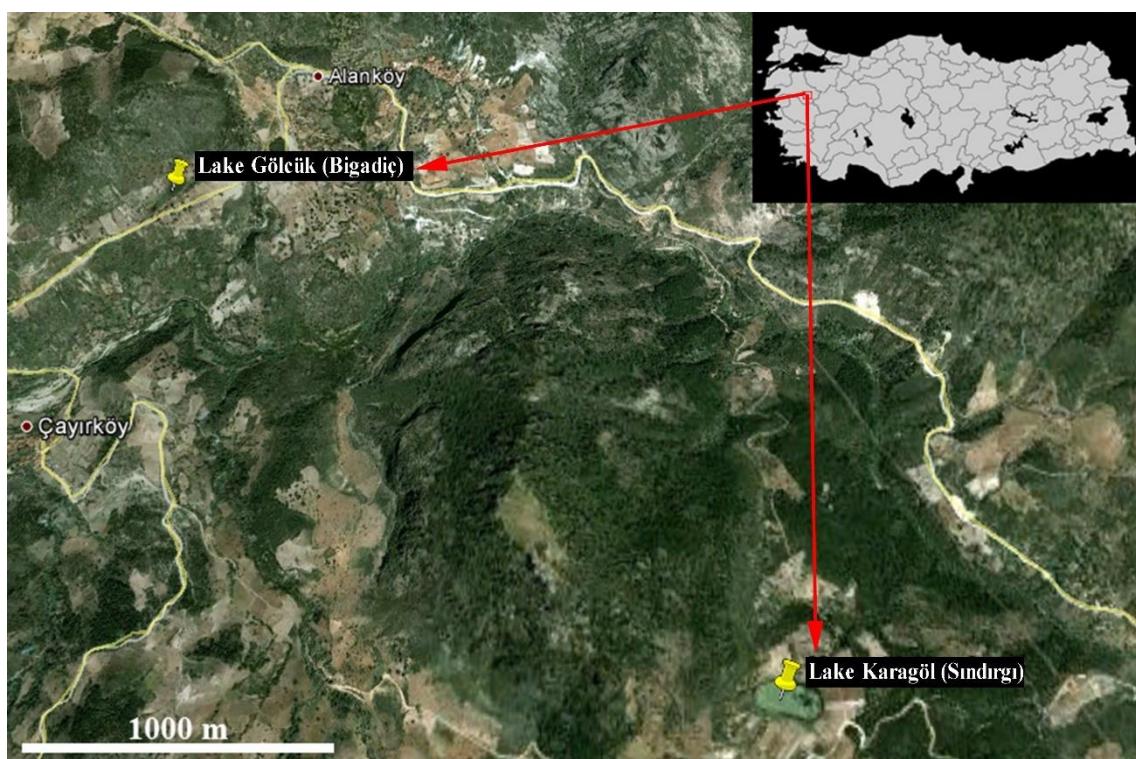


Figure 1. Map location of Lake Karagöl (Sındırı, Balıkesir) and Lake Gölcük (Bigadiç, Balıkesir) where this study was conducted.

2.3. Sampling of leeches

While actively swimming individuals were collected by plastic sieve, passive specimens were collected by hand or with forceps from stones, plant leaves and foreign objects with surface area such as wood, bags, sacks, etc. Since the colors of spot and papillae are also taken into consideration in the species identification of Hirudinea samples (Neubert and Nesemann, 1999), the specimens were transported live in different plastic jars with the locality information recorded to the Limnology Laboratory of Eğirdir Fisheries Research Institute Directorate.

2.4. Identification of leeches

Leeches were gradually anesthetized with 15% ethanol. Species identification was performed under an Olympus SZX2 stereo microscope according to Sawyer (1986), Davies (1991), Neubert and Nesemann (1999) and Sağlam (2004).

3. RESULTS

As a result of the species identification, 5 species belonging to 4 families were identified in Lake Karagöl and 4 species belonging to 2 families were identified in Lake Gölcük. The identified species are given in Table 1.

Table 1. Leech species and sample numbers in Lake Karagöl and Lake Gölcük by sampling period.

Wetlands	Familia	Species	Number of leeches collected	
			2012	2022
Lake Karagöl	Glossiphonidae	<i>Placobdella costata</i> (Müller, 1846)	5	4
		<i>Helobdella stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	1	-
	Hirudinidae	<i>Hirudo verbana</i> Carena, 1820	21	2
	Haemopidae	<i>Haemopis sanguisuga</i> (Linnaeus, 1758)	4	-
	Erpobdellidae	<i>Dina punctata</i> Johansson, 1927	54	8
		<i>Placobdella costata</i> (Müller, 1846)	6	11
Lake Gölcük	Glossiphonidae	<i>Glossiphonia concolor</i> (Apáthy, 1888)	1	7
		<i>Dina punctata</i> Johansson 1927	4	-
	Erpobdellidae	<i>Dina lineata</i> (Müller, 1774)	3	1

Among the species identified in this study, *D. punctata* is the first record for the Hirudinea fauna of Türkiye (Figure 2). While all identified species could be sampled in 2012, *H. stagnalis*, *H. sanguisuga* could not be sampled for both lakes and *D. punctata* could not be sampled in Lake Karagöl in 2022.

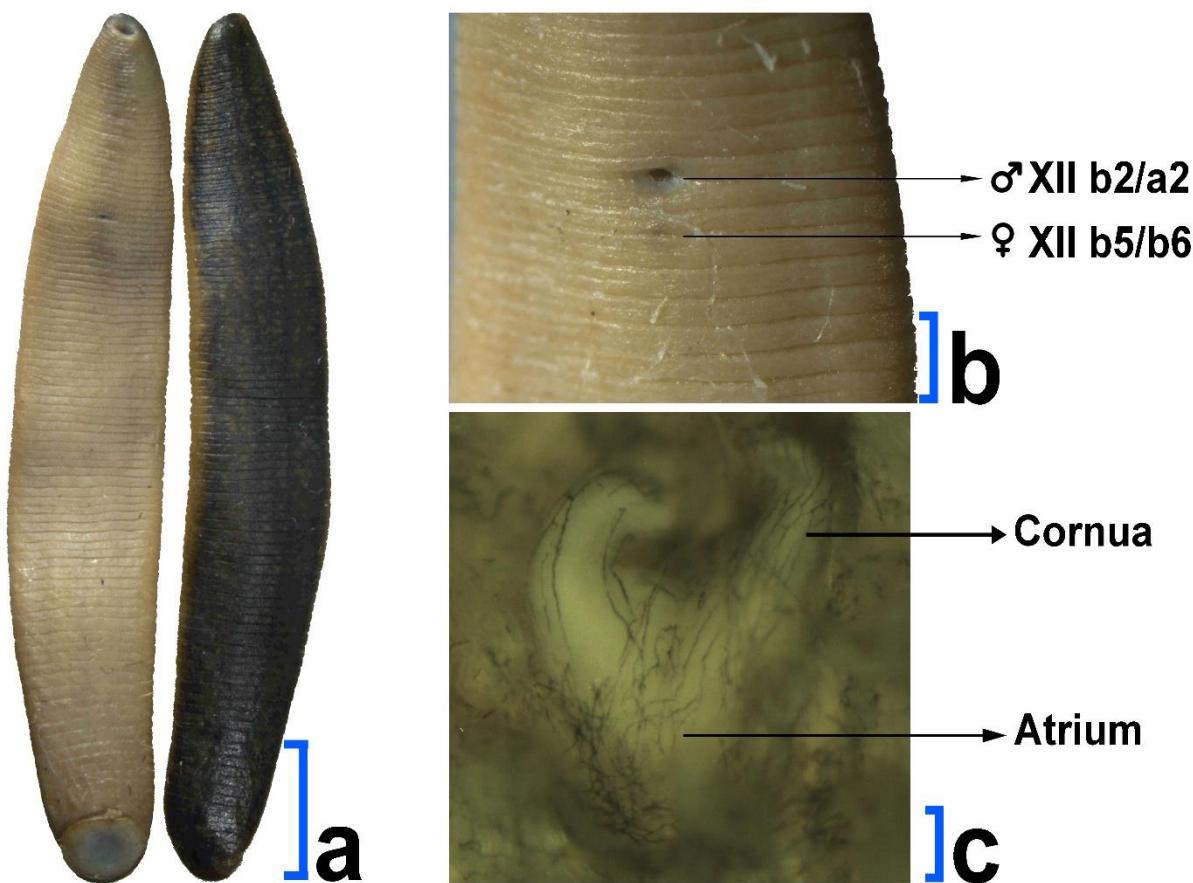


Figure 2. *Dina punctata* Johansson, 1927: A new record for the Hirudinea fauna of Türkiye.

a: Ventral (left) and dorsal (right) view of the leech; upper part of the leech shows the anterior region (Bar: 5 mm). b: The genital pores are separated from each other with two annuli (Bar: 1 mm). c: Atrium and cornua of the leech (Bar: 1 mm).

D. punctata is a medium-sized leech with a body length of up to 85 mm. Although the anterior part of the body is more or less cylindrical, the anterior cecum is long and protruding and the pseudognatha are well developed. The genital cavities are separated from each other by 1.5-2 annuli; usually the male genital cavity is located at b2/a2, sometimes at the beginning of a2. The female genital cavity is always located on the b5/b6 border. The coloration of living individuals varies considerably. They are mostly dark red-brown and black. The dorsal surface is covered with yellow reddish spots on the anterior part of the body. These spots are irregularly arranged in two transverse rows on the a2 annuli. On the dorsal surface there is a pair of paramedian stripes that fade in the posterior part of the body. The body surface is covered with small papillae, so it appears rough (Nesemann, 1993; Neubert and Nesemann, 1999).

G. concolor is a small-sized leech with a maximum body length of 35 mm. The head is slightly detached from the body. It has three pairs of eyes. The genital cavities are separated from each other by 2 annuli, the male genital cavity is located at XI a3/XII a1 and the female genital cavity at XII a2/a3. The color of living individuals is yellowish and brownish. There are 3 pairs of dark stripes, of which the inner paramedian pair is very prominent and irregularly interrupted at the a2 annuli. The dorsal surface is completely covered with small yellow dots. The body surface is smooth, and papillae are absent in young individuals, whereas papillae may be present in adults. There may be a stripe up to the anterior half of the ventral region of the body (Nesemann, 1990; Neubert and Nesemann, 1999; Sawyer, 1986; Elliott and Dobson, 2015; Grosser et al., 2016).

Among the leech species sampled, *P. costata* was found under the stones and attached to the boot. *H. stagnalis* and *G. concolor* individuals were found to the surface of stones. *H. sanguisuga* was sampled passively under the stones on the shoreline of the Lake Karagöl. The leeches belonging to *D. punctata* was the dominant leech species in Lake Karagöl; they were found under stones. Individuals

of *D. lineata* were sampled under stones. *H. verbana* individuals were sampled with a plastic sieve while actively swimming towards the wave source formed by mixing the water. They were also found among the submersed plants in Lake Karagöl and clinging to the boots.

4. DISCUSSION

P. costata is a leech species that mostly prefers turtles as hosts, but can also survive on amphibians, fish, reptiles, birds and mammals (Sawyer, 1986; Sağlam, 2001). Interestingly, individuals of this leech species have been also reported to parasitize humans (Cichocka et al., 2021). The species, whose type locality is the Crimean Peninsula, is distributed in the Palearctic geography (Neubert and Nesemann, 1999; Kvist et al., 2022). In this study, it was the most collected leech species in Lake Gölcük.

H. stagnalis is a species with high ecological tolerance and is known to be distributed even in wetlands with a salinity of %3.6 (Neubert and Nesemann, 1999). It can be sampled under stones in stagnant waters with high macrophyte density (Özbek and Sari, 2007). The most important parameter determining the distribution of the species has been reported as the presence of food (Sawyer, 1986; Sağlam and Dörücü, 2002). Its diet is dominated by macroinvertebrates of Chironomidae and Oligochaeta, but also includes Gastropoda, Amphipoda, Copepoda and Cladocera (Davies et al., 1979). The species is distributed in Palearctic and Nearctic regions (Neubert and Nesemann, 1999).

H. verbana is one of the two medicinal leech species distributed in Turkish wetlands with *Hirudo sulukii* (Sağlam et al., 2016; Ceylan et al., 2021a). The reason for the use of the species in the field of medicine is the bioactive substance content in its secretions (Singh, 2010; Liu et al., 2019). Since the exposure of its habitats to various pollutants and overfishing have caused *H. verbana* populations to weaken, the cultivation of the species has gained importance (Sağlam, 2018; Ceylan, 2020). International trade of the species is carried out with certain quotas under the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES) (Sağlam, 2011; Williams et al., 2020; Ceylan and Çetinkaya, 2021). Depending on their developmental stages, mammals, reptiles, birds, fish and amphibians are the main hosts preferred in nature (Wilkin and Scofield, 1990; Manav et al., 2019). In this study, it could only be sampled from Lake Karagöl. It is thought that the remote location of Lake Karagöl from the settlement both partially protected the lake from human intervention and provided an opportunity for wild animals, which are among its hosts, to colonize more easily. It is thought that the interventions made to Lake Gölcük, which was previously reported to have medicinal leeches by the local people, destroyed the habitat, and it is thought that the water withdrawal from the lake with pumps both changed the water regime of the habitat, and it is possible that the leeches were removed from the lake by the pump.

H. sanguisuga is a predatory leech that feeds on both terrestrial and aquatic invertebrates. It is naturally distributed in many habitat types of the Palearctic geography with stagnant and flowing systems (Neubert and Nesemann, 1999). It is frequently found in the littoral zone of wetlands and can also be sampled in waterfowl nests (Ceylan et al., 2021b). Since it has the potential to be used as live feed in fish aquaculture, it is one of the leech species that can be brought into aquaculture (Ceylan et al., 2017).

D. punctata, which was reported for the first time in Türkiye with this study, was the most frequently sampled species in Lake Karagöl. This species lives in both aquatic and moist terrestrial environments (Ben Ahmed et al., 2015). The species, whose type locality is Barcelona Guardiola (Spain), was previously reported to be distributed in wetlands in France, Italy, Switzerland, Liechtenstein, Hungary, Austria, Slovakia, Tunisia, Algeria, Iran and Iraq (Nesemann and Neubert, 1994; Neubert and Nesemann, 1999; Beracko and Košel, 2011; Ben Ahmed et al., 2013; Ben Ahmed et al., 2015; Darabi-Darestani et al., 2016; Bilal et al., 2017). With this study, it was determined that the species is also distributed in the wetlands of Türkiye.

G. concolor is a predatory species feeding on small Molluscs. The species, whose type locality is Danube at Dunaharaszti (Hungary), has a wide distribution in Europe and can be found in lakes, ponds and rivers (Nesemann, 1990; Neubert and Nesemann, 1999). Apart from Europe, it has also been reported in Iran (Darabi-Darestani et al., 2016; Darabi-Darestani et al., 2021), indicating that the distribution of the species also includes Asian countries.

D. lineata lives in both terrestrial and aquatic environments. This species is distributed in the

Mediterranean and Middle East (Neubert and Nesemann, 1999).

5. CONCLUSION

Studies on Hirudinea fauna in Turkish wetlands are limited due to the low number of researchers working in leeches. Recently, studies supported by molecular methods (Sağlam et al., 2016) have contributed both to the disclosure of the Hirudinea fauna in the wetlands of Türkiye and to the introduction of new leech species to the literature. This study, in which a new leech species was reported for the Hirudinea fauna of Türkiye, indicates that our country can make important contributions to the science in leeches.

ACKNOWLEDGMENT

This study was presented at the II. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries. I would like to thank Mr. Zekeriya AVCU, Mr. Recep GÜNDÜZ and Mr. Ömer AVCU and Mr. Muhammed AVCU from Panayır Village (Bigadiç-Balıkesir) and Mr. Yusuf YİĞİT from Alanköy (Bigadiç-Balıkesir) for their support in conducting the field study.

FUNDING

No financial support was received for this study.

CONFLICT OF INTEREST

The author declares that there are no financial interests or personal relationships that may have influenced this work.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

All work packages in this study were performed by the author.

ETHICAL STATEMENTS

Local Ethics Committee Approval was not obtained because experimental animals were not used in this study.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The data used in this study are available on the Figshare platform with the DOI address <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.23369570>

REFERENCES

- Adla, K., Dejan, K., Neira, D., & Dragana, Š. (2022). Degradation of ecosystems and loss of ecosystem services. *One Health*, 22, 281-327. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822794-7.00008-3>
- Ahmad, A., Maimon, A., Othman, M.S., & Mohd Pauzi, A. (2002). The Potential of Local Benthic Macroinvertebrates as a Biological Monitoring Tool For River Water Quality Assessment. *Proceedings of the Regional Symposium on Environment and Natural Resources*, 1, 464-471.
- Ben Ahmed, R.B., Bielecki, A., Cichocka, J.M., Tekaya, S., Gorzel, M., & Harrath, A.H. (2013). Erpobdellid leeches (Annelida, Clitellata, Hirudinida) from Tunisia: New records with the description of a new *Trocheta* species. *Zootaxa*, 3681(4), 440-454. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3681.4.7>
- Ben Ahmed, R., Gammoudi, M., Khaled, I., Tekaya, S., Mansour, L., Alwassel, S., & Harrath, A. H. (2015). Annotations on marine and freshwater leeches (Annelida, Clitellata, Hirudinea) from North Africa. *Tropical Zoology*, 28, 71-93. <https://doi.org/10.1080/03946975.2015.1046737>
- Bendell, B.E., & McNicol, D.K. (1991). An Assessment of Leeches (Hirudinea) As Indicators of Lake Acidification. *Canadian Journal of Zoology*, 69(1), 130-133. <https://doi.org/10.1139/z91-019>
- Beracko, P., & Košel, V. (2011). Life cycle and feeding habits of *Dina punctata* Johansson, 1927 (Erpobdellidae, Hirudinea) in a small Carpathian stream. *International Review of Hydrobiology*, 96(1), 39-47. <https://doi.org/10.1002/iroh.201011260>
- Bilal, S., Ali, L., Abdullah, L. Y., Khailany, R. A., Dhahir, S. F., & Abdullah, S. M. (2017). First

- record of leech *Dina punctata* (Annelida: Erpobdellidae) from Lesser Zab River in northern Iraq: Morphological and molecular investigation. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 2, 69-72.
- Ceylan, M., Küçükkara, R., Akçimen, U., & Yener, O. (2017). Reproduction efficiency of the horse leech, *Haemopis sanguisuga* (Linnaeus, 1758). *Invertebrate Reproduction & Development*, 61(3), 182-188. <https://doi.org/10.1080/07924259.2017.1318096>
- Ceylan, M. (2020). Effects of maternal age on reproductive performance of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820. *Animal Reproduction Science*, 218, 106507. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2020.106507>
- Ceylan, M., & Çetinkaya, O. (2021). Size and structure of the Mediterranean medicinal leech, *Hirudo verbana* populations inhabiting wetlands around Lake Eğirdir, Turkey. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38(4), 437-447. <https://doi.org/10.12714/egejfas.38.4.05>
- Ceylan, M., Küçükkara, R., Erbatur, İ., Karataş, E., Tunç, M., & Sağlam, N. (2021a). Growth, survival and reproduction of the Turkish medicinal leech, *Hirudo sulukii*. *Invertebrate Reproduction & Development*, 65(1), 57-68. <https://doi.org/10.1080/07924259.2021.1885506>
- Ceylan, M., Çetinkaya, O., & Kvist, S. (2021b). Function of the waterfowl nests as reproduction and living areas for leeches (Annelida: Hirudinea). *Animal Reproduction Science*, 232, 106816. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106816>
- Cichocka, J. M., Bielecki, A., Jabłońska-Barna, I., Krajewski, Ł., Topolska, K., Hildebrand, J., ... & Abramchuk, A. (2021). Sucking of human blood by *Placobdella costata* (OF Müller, 1846)(Hirudinida: Glossiphoniidae): Case study with notes on body form. *Ecology and Evolution*, 11(24), 17593. <https://doi.org/10.1002/ece3.8261>
- Darabi-Darestani, K., Sari, A., & Sarafrazi, A. (2016). Five new records and an annotated checklist of the leeches (Annelida: Hirudinida) of Iran. *Zootaxa*, 4170(1), 41-70. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4170.1.2>
- Darabi-Darestani, K., Sari, A., Khomenko, A., Kvist, S., & Utevsky, S. (2021). DNA barcoding of Iranian leeches (Annelida: Clitellata: Hirudinida). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 59(7), 1438-1452. <https://doi.org/10.1111/jzs.12538>
- Davies, R. W., Wrona, F. J., & Linton, L. (1979). A serological study of prey selection by *Helobdella stagnalis* (Hirudinoidea). *The Journal of Animal Ecology*, 48(1) 181-194.
- Davies, R. W. (1991). *Annelida, Leeches, Polychaetes and Acanthobdellids. Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*. Academic Press.
- Deveciyan, K. (1915). *Türkiye'de Balık ve Balıkçılık*. Aras Yayıncılık.
- Elliott, J. M., & Dobson, M. (2015). *Freshwater Leeches of Britain and Ireland: Keys to the Hirudinea and a Review of Their Ecology*. Freshwater Biological Association, United Kingdom.
- Geldiay, R. (1949). Etude Comparee sur les faunes macroscopique et microscopique du barrage de tchoubouk et du la' d'Emir (Voisinag' d'Ankara). *Communications Faculty of Sciences University of Ankara Series A1 Mathematics and Statistics*, 2, 151-199. DOI: https://doi.org/10.1501/Commua1_0000000166
- Grosser, C., Pešić, V., Berlajoli, V., & Gligorović, B. (2016). *Glossiphonia balcanica* n. sp. and *Dina prokletijaca* n. sp. (Hirudinida: Glossiphoniidae, Erpobdellida) - Two New Leeches from Montenegro and Kosovo. *Ecologica Montenegrina*, 8, 17-26. <https://doi.org/10.37828/em.2016.8.2>
- Kang, C. K., Kim, H. W., Park, H. J., & Lee, C. I. (2023). Sharing Scientific Evidence of the Response of Aquatic Animals to Environmental Change. *Fishes*, 8, 40. <https://www.mdpi.com/2410-3888/8/1/40>
- Kazancı, N., Ekingen, P., & Türkmen, G. (2009). A study on Hirudinea Fauna of Turkey and habitat quality of the species. *Review of Hydrobiology*, 1, 81-95.
- Koperski, P. (2005). Testing The Suitability of Leeches (Hirudinea, Clitellata) For Biological Assessment of Lowland Streams. *Polish Journal of Ecology*, 53(1), 65-80.
- Kvist, S., Utevsky, S., Marrone, F., Ben Ahmed, R., Gajda, Ł., Grosser, C., ... & Müller, C. (2022). Extensive sampling sheds light on species-level diversity in Palearctic *Placobdella* (Annelida: Clitellata: Glossiphoniiformes). *Hydrobiologia*, <https://doi.org/10.1007/s10750-021-04786-5>
- Liu, Z., Tong, X., Su, Y., Wang, D., Du, X., Zhao, F., Dingkang, W., & Zhao, F. (2019). In-depth

- profiles of bioactive large molecules in saliva secretions of leeches determined by combining salivary gland proteome and transcriptome data. *Journal of proteomics*, 200, 153-160. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.03.009>
- Manav, M., Ceylan, M., & Büyükcabar, H. M. (2019). Investigation of reproductive efficiency, growth performance and survival of the southern medicinal leech, *Hirudo verbana* Carena, 1820 fed with mammalian and poultry blood. *Animal Reproduction Science*, 206, 27-37. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.05.004>
- Metcalfe, J. L., Fox, M.E., & Carey, J. H. (1988). Freshwater Leeches (Hirudinea) as a Screening Tool For Detecting Organic Contaminants In The Environment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 11, 147-169. <https://doi.org/10.1007/BF00401727>
- Minelli, A. (1978). "Dina vignai" n. sp. a new cave leech from Turkey (Hirudinea, Erpobdellidae). *Quaderni Di Speleologia, Circolo Speleol Romano*, 3, 9-14.
- Nesemann, H. (1990). Investigations on two *Glossiphonia* species (Hirudinea) from running waters of Central Europe with a redescription of *Glossiphonia concolor* (Apáthy, 1888). *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*, 82, 65-74.
- Nesemann, H. (1993). Identification Key to the Hungarian Leeches of the Subfamily Trochetinae Pawlowski, 1956, With Notes on Systematics of the Subfamily Erpobdellinae Blanchard, 1894 (Hirudinea). *Annales Historico-Naturales Musei Nationalis Hungarici*, 85, 19-35.
- Nesemann, H., & Neubert, E. (1994). New data to the leeches of the subfamily Trochetinae (Hirudinea, Erpobdellidae). *Miscellanea Zoologica Hungarica*, 9, 19-28.
- Neubert, E., & Nosemann, H. (1995). A new species of *Batracobdella* (Hirudinea, Glossosiphoniidae) from Turkey. *Zoology in the Middle East*, 11(1), 109-111.
- Neubert, E., & Nesemann, H. (1999). *Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellea, Hirudinea*. Süßwasserfauna von Mitteleuropa 6/2. Spektrum Akademischer Verlag.
- Özbek, M., & Sarı, H. M. (2007). Batı Karadeniz Bölgesindeki Bazı Göllerin Hirudinea (Annelida) Faunası. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 24(1), 83-88.
- Sağlam, N. (2001). First record of the leech *Placobdella costata* (Hirudinoidea: Glossiphoniidae) in Turkey. *Zoology in the Middle East*, 23(1), 113-118. <https://doi.org/10.1080/09397140.2001.10637876>
- Sağlam, N., & Dörücü, M. (2002). Observations on the ecology of the freshwater leech *Helobdella stagnalis* (Hirudinoidea: Glossiphoniidae), new for Turkey. *Zoology in the Middle East*, 25(1), 115-120. <https://doi.org/10.1080/09397140.2002.10637912>
- Sağlam, N. (2004). *Tatlı Su ve Deniz Sülükleri Tanı Anahtarı*. Fırat Üniversitesi Basım Evi.
- Sağlam, N. (2011). Protection and sustainability, exportation of some species of medicinal leeches (*Hirudo medicinalis* L., 1758 and *Hirudo verbana* Carena, 1820). *Journal of FisheriesSciences.com*, 5(1), 1-15.
- Sağlam, N., Saunders, R., Lang, S. A., & Shain, D. H. (2016). A new species of *Hirudo* (Annelida: Hirudinidae): historical biogeography of Eurasian medicinal leeches. *BMC Zoology*, 1(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s40850-016-0002-x>
- Sağlam, N. (2018). The effects of environmental factors on leeches. *Advances in Agriculture and Environmental Science: Open Access*, 1(1), 00001.
- Sawyer, R. T. (1986). *Leech Biology and Behaviour*. Clarendon Press.
- Scrimgeour, G. J., Wicklund, D., & Pruss, S. D. (1998). Selection of an aquatic indicator species to monitor organic contaminants in trophically simple lotic food webs. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 35, 565-572. <https://doi.org/10.1007/s002449900417>
- Singh, A. P. (2010). Medicinal leech therapy (hirudotherapy): a brief overview. Complementary therapies in clinical practice, 16(4), 213-215. <https://doi.org/10.1016/j.ctcp.2009.11.005>
- Tempelman, D. (2008). Leeches and the Water Framework Directive. *Lauterbornia*, 65, 193-203.
- Thearle, M. J. (1998). Leeches in Medicine. *Australian and New Zealand Journal of Surgery*, 68, 292-295. <https://doi.org/10.1111/j.1445-2197.1998.tb02086.x>
- Wilkin, P. J., & Scofield, A. M. (1990). The use of a serological technique to examine host selection in a natural population of the medicinal leech, *Hirudo medicinalis*. *Freshwater Biology*, 23(2), 165-169. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1990.tb00261.x>
- Williams, K. M., Barkdull, M., Fahmy, M., Hekkala, E., Siddall, M. E., & Kvist, S. (2020). Caught red

- handed: iDNA points to wild source for CITES-protected contraband leeches. *European Journal of Wildlife Research*, 66(5), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10344-020-01419-5>
- Yoccoz, N. G., Nichols, J. D., & Boulinier, T. (2001). Monitoring of biological diversity in space and time. *Trends in ecology & evolution*, 16(8), 446-453. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02205-4](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02205-4)

Physicochemical Properties of Sprat (*Sprattus sprattus* L., 1758) Protein Hydrolysate and Usage as a Coating Material on Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) Fillets

Çaça (*Sprattus sprattus*, L., 1758) Protein Hidrolizatinin Fizikokimyasal Özellikleri ve Alabalık (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) Filetolarında Kaplama Malzemesi Olarak Kullanımı

Gülsüm Balçık Mısır^{1,*}, Büket Buşra Dağtekin¹, Sebahattin Kutlu¹

¹Central Fisheries Research Institute Directorate, Vali Adil Yazar Cadd. Street, No: 14, Kaşüstü Yomra Trabzon, Türkiye

*Corresponding Author: gulsum61balcik@gmail.com

Received: 17.10.2022

Accepted: 26.04.2023

Published: 01.09.2023

How to Cite: Balçık Mısır, G., Dağtekin, B. B., & Kutlu, S. (2023). Physicochemical properties of sprat (*Sprattus sprattus*) protein hydrolysate and usage as a coating material on trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 218-234. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1190473>

Abstract: Trout is the most widely cultivated and traded fish species in Turkey and many European countries, and a total of 471686 tons of production was realized in Turkey's seas and inland waters in 2021. In addition to its nutritive value, this fish takes a crucial position in the aquaculture sector due to its continuous and intensive production. In this study, innovative bioactive protein hydrolysates (PH) produced from sprat were used as a coating to increase the quality and shelf life of trout fillets stored at +4 °C. The yields of traditional hydrolysate (TH) and ultrasound-assisted hydrolysate (UH) were 8.66% and 12.63%, respectively. Protein values of TH and UH were 75.88 and 74.45%, respectively. Three fillet groups were prepared from trout: uncoated control group (C), traditional enzymatic protein hydrolysate coated group (THC), and ultrasound-assisted enzymatic protein hydrolysate coated group (UHC). TVB-N value, which was 12.96 mg/100g in fresh trout, exceeded the consumable limit with 38.52 mg/100g on the 9th day of storage in the C. This value reached 32.92 mg/100g and 33.62 mg/100g on the 12th day for THC and UHC, respectively. At the beginning of storage, 0.21 mg MA/kg TBA reached the consumable limit with 7.72 mg MA/kg in the C on the 9th day, while THC and UHC remained within the limit with 6.67 mg MA/kg and 6.79 mg MA/kg, respectively. Total aerobic mesophilic bacteria (TAMB) and total aerobic psychrophilic bacteria (TAPB) counts on day 0 of storage were 2.13 log cfu/g and 1.66 log cfu/g, respectively. These values were calculated as 6.90, 5.20, 5.04, 6.95, 3.48, and 3.22 log cfu/g for C, THC, and UHC on the 12th day of storage, respectively. The application of ultrasound during the production of protein hydrolysate significantly increased the yield and hydrolysis degree of UH compared to TH. The lipid ratio of UH was also found to be significantly lower than TH. In these respects, the application of ultrasound has provided an advantage. Although both coatings have provided significant protection compared to the C, generally similar results were obtained between the THC and UHC. PH coatings delayed the chemical, physical, and microbial spoilage of trout fillets and extended the storage period. The results showed that PH can be used as a coating on fish fillets stored in cold conditions.

Keywords

- Trout
- Protein hydrolysate
- Coating
- Sprat
- Ultrasound

Özet: Alabalık ülkemizde ve birçok Avrupa ülkesinde yetiştiriciliği ve ticareti en fazla yapılan balık türüdür ve 2021 yılında ülkemiz denizleri ve içsularında toplam 471686 tonluk üretimi gerçekleşmiştir. Besleyici değerinin yanısıra sürekli ve yoğun üretiminden dolayı bu balık su ürünleri sektöründe önemli bir yere sahiptir. Bu çalışmada +4 °C'de depolanan alabalık filetolarının kalite ve raf ömrünü uzatmak amacıyla çaca'dan üretilen yenilikçi biyoaktif protein hidrolizatları (PH) kaplama olarak kullanılmıştır. Geleneksel hidrolizat (TH) ve ultrason destekli hidrolizat (UH) verimleri sırasıyla %8.66 ve %12.63 olarak hesaplanmıştır. TH ve UH'a ait protein değerleri sırasıyla %75.88 ve %74.45 olarak belirlenmiştir. Kaplamasız kontrol grubu (K), geleneksel enzimatik protein hidrolizat ile kaplanmış grup (GHKS) ve ultrases destekli enzimatik protein hidrolizat ile kaplanmış grup (UHKS) olmak üzere 3 fileto grubu hazırlanmıştır. Taze alabalıkta 12,96 mg/100g olan TVB-N değeri K grubunda depolamanın 9. gününde 38,52

Anahtar kelimeler

- Alabalık
- Protein hidrolizatı
- Kaplama
- Çaça
- Ultrason



mg/100g ile tüketilebilirlik sınırını aşmıştır. Bu değer GHKS ve UHKS için 12. günde sırasıyla 32,92 mg/100g ve 33,62 mg/100g'a ulaşmıştır. Depolamanın başında 0,21 mg MA/kg TBA değeri 9. günde K grubunda 7,72 mg MA/kg ile tüketilebilirlik sınırına ulaşırken GHKS ve UHKS de sırasıyla 6,67 mg MA/kg ve 6,79 mg MA/kg ile sınırın içerisinde kalmıştır. Depolamanın 0. gününde toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) ve toplam aerobik psikrofilik bakteri (TAPB) sayıları sırasıyla 2,13 log kob/g ve 1,66 log kob/g olarak bulunmuştur. Bu değerler depolamanın 12. gününde K, GHKS ve UHKS için sırasıyla 6,90, 5,20, 5,04 ve 6,95, 3,48 ile 3,22 log kob/g olarak hesaplanmıştır. PH kaplamalar alabalık filetolarında kimyasal, fiziksel ve mikrobiyal bozulmayı geciktirerek depolama süresini uzatmıştır. Elde edilen sonuçlar PH'in, soğuk koşullarda depolanan balık filetolarında kaplama olarak kullanabileceğini göstermiştir.

1. INTRODUCTION

Today, the awareness of consumers has led to an increase in the consumption of functional foodstuffs, especially seafood. This necessitated the use of safe additives to extend the shelf life, improve color and textural properties, and increase flavor and nutritional value by preserving the sensory properties of the foods to be consumed at the industrial food production stages, without impairing the quality. In general, artificial acidity regulators, antioxidant and antimicrobial effects, color, texture, flavor enhancers, emulsifiers, and stabilizing agents can be used in the processing technologies to be applied to the product. In recent years, there has been a tendency to use chemical additives in foods in natural and near-natural forms as much as possible (Ghanbari et al., 2013; Erkan et al., 2015). There is a need for studies to develop alternative production models using natural raw materials to meet the demands for healthy and safe products, and to obtain products with improved nutritional value with different additives.

Fisheries are important sources in meeting the world's protein needs. The aquaculture sector is among the important sectors that provide continuous input to the national economies. But there are critical issues at all stages from the production to consumption of seafood faced by the aquaculture industry, both economically and environmentally. Namely, species that landed as discarded, species that traditionally have no demand for consumption, by-products and wastes generated during processing, and poor and/or inadequate processing, packaging, and storage conditions (FAO, 2020).

With the scientific research in recent years innovative and environmentally friendly production, processing, packaging, distribution, and storage techniques are being developed (Biji et al., 2015; Hoek et al., 2021). At the same time, from the raw material to the final product; by evaluating the discharged species and by-products and wastes, with added value, with functional features, Significant progress has been made in the development of natural products versus synthetic products (Şimat et al., 2021; Tiwari and Khawas, 2021).

Lorenzo et al. (2018) reported that people are aware of the food-health relationship and that they have started to use their food consumption preferences in favor of ingredients consisting of healthy ingredients free from synthetic additives. Protein hydrolysates demonstrate great potential as antioxidant additives to food because they can act in several ways: by reducing hydro-peroxides, scavenging free radicals, ROS inactivation, pro-oxidative transition metal chelation, and modifying the physical properties of the products (Sohaib et al., 2017). Loi, Eyres, and Birch, (2019) stated that showing surface-active properties, proteins derived from protein hydrolysates they can act as a physical barrier, minimizing the contact of lipids with oxidizing agents, which contributes to the reduction of lipid peroxidation in such foods. Barcellos et al., (2020) determined the impacts of the commercial fish gelatin hydrolysate added to rainbow trout fillets (*Oncorhynchus mykiss*) packed under vacuum. Their results were compared and correlations were observed regarding fish preservation assessments. The authors concluded that the application of protein hydrolysate as an additive is promising and can effectively control food quality for a longer period.

In the evaluation of world fishery products, live fresh and chilled products have the largest share among consumers' preferences (FAO, 2020). Usage areas of seafood products other than human consumption are agricultural usage from wastes, industrial usage as a nutrient-rich soil amendment and digest into fuel and fertilizer from by-products, and the highest and most preferred usage is food grade usage for human consumption as maintaining food grade standards, hydrolyzed proteins, nutraceuticals, pharmaceuticals, etc., (Anal, 2017).

In this study, sprat, which is the most caught fish after anchovy in Turkey's seas, but is not used for

human consumption was used for the production of a protein hydrolysate, and some physicochemical properties of hydrolysate were determined. The enzymatic method was applied for Protein hydrolysate production, and it was used in different ways as conventional and ultrasound-assisted. Trout fillets were coated with sprat protein hydrolysate, with various functional properties, to reduce and/or delay the quality losses during the storage at +4 °C. The quality changes that occurred by coating with hydrolysate were investigated.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Materials

In the study, whole sprat (*Sprattus sprattus* L., 1758). was used for the production of hydrolysates (TH and UH) (Figure 1a). Sprat was caught by a research vessel of Central Fisheries Research Institute, Trabzon, Turkey, stored in the freezer in the vessel, and reached the Food Technology Laboratory in iced box adjusted Styrofoam boxes. Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) was used for the production of coated fish fillets (Figure 1b). The fish were obtained from a local fish store (Trabzon, Turkey) and brought to the laboratory under a cold chain. After measuring their length and weight, the fish were washed under tap water and their internal organs and skins were removed, and the fish were filleted. The enzyme used in the production of hydrolysate was Alcalase 2.4 L (AU/kg Sigma Aldrich) (Novozymes, Bagsvaerd, Denmark).

Food-grade glycerol; (99.96% purity W252506, Sigma-Aldrich) at 20% (w/w, based on biopolymer content) was purchased from Sigma Aldrich (Steinheim, Germany) and used as a plasticizer. All other chemicals, and solvents used in this work were of analytical grade.

2.2. Methods

The hydrolysis process was carried out in a shaking water bath at pH 8 and temperature of 60 °C, using Alcalase at 0.5% enzyme/substrate ratio for 1 hour according to Sathivel et al. (2005) with some modifications as expressed in Balçık Misir and Koral, 2019. Ultrasound pretreatment was applied for UH production. A probe-type ultrasound (Bandelin, Sonoplus HD 4200, homogenizer, Germany) was used for this purpose; the device was set up with 40% amplitude, and the pulse/wait time was set up 10/10 seconds as given Rodriguez-Turienzo et al. (2012).



a

b

Figure 1. Spratt (*Sprattus sprattus*)(a), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)(b)

2.2.1. Degree of Hydrolysis

The degree of Hydrolysis of protein hydrolysates was determined according to the pH-stat method. The pH of the solution was kept constant at 8 with 0.1 N NaOH. NaOH consumption was recorded every 5 minutes for 60 minutes. Results are expressed as % (Wrolstad et al., 2005).

2.2.2. Yield of Hydrolysate

Yields of fish protein hydrolysates were based on the initial substrate amount.

2.2.3. Proximate analysis

Standard methods were used for crude protein, and lipid, analysis (AOAC 1995). The amount of crude protein was calculated by multiplying the amount of N% obtained by a factor of 6.25 (AOAC, 1995). A crude lipid with Soxhlet extraction with diethyl ether. The moisture content of the samples was determined according to Ludorff and Meyer (1973). Ash analysis was conducted according to

Mattissek et al. (1988).

2.2.4. Antioxidant Activity

Free radical scavenging activities of hydrolysates were carried out according to the method of Brand-Williams et al. (1995).

2.2.5. Preparation of the coatings:

Coatings were prepared according to Rodriguez-Turienzo et al. (2012). FPH content of the coatings was adjusted to 8% and weighted values mixed with distilled water at 20 °C for 30 minutes. By adding glycerol to the mixtures with a protein/glycerol ratio of 2:1, the pH was adjusted to 7 with 1N NaOH in a water bath at 60 °C and shaken for 30 min (Figure 2).

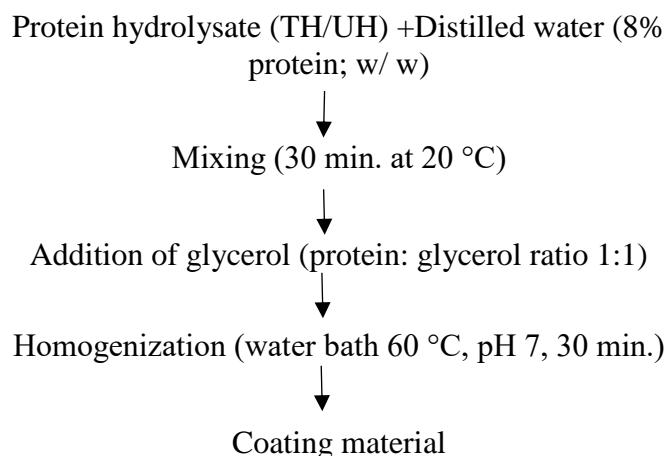


Figure 2. Preparation of coating materials

2.2.6. Coated Trout Fillets

2.2.6.1. Preparation of coated fillets:

The dipping method was used for the coating process. Fish fillets were coated with TH and UH as given by Balçık Mısı̄r and Koral (2021). Briefly 5 min. immersing into the coating solution for 3 min. draining on the grill. The coating process of trout fillets is demonstrated in Figure 3.

Fillets were prepared by hand, washed, and drained. Drained fillets were divided into three treatments: control without any coating (C), TH coated group (THC) UH coated group (UHC).

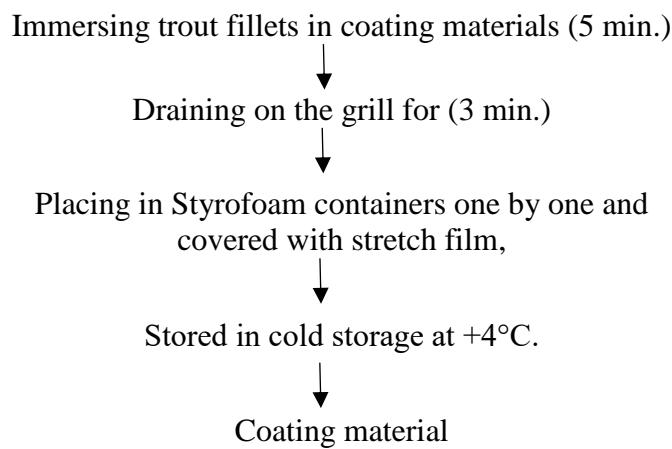


Figure 3. The coating process of trout fillets

In the study, samples were separated from each group for day 0 analyses. Analyzes were performed at +4 °C with an interval of 2 days.

2.2.6.2. Water activity

The water activities of the samples were measured with a water activity device (Aqualab 4TE, USA). The amount of water activity in the samples is placed in the measuring cups of the device and read automatically.

2.2.6.3. pH measurement

The pH values of the samples were determined using a pH meter (Mettler Toledo, FiveGo F2, Greifensee Switzerland).

2.2.6.4. Color Analysis

Color analysis was performed using Konika Minalto CR 10 (Inc., Japan) color analyzer. L*, a*, and b* values were determined according to the criteria given by the International Commission on Illumination CIELAB (Commission Internationale de l'Eclairage), which is based on three-dimensional color measurement.

2.2.6.5. Total Volatile Basic Nitrogen (TVB-N) Analysis

The determination of total volatile basic nitrogen (TVB-N) was determined by the distillation method (Varlik et al., 1993) applied by Antonacopoulos and Vyncke (1989).

2.2.6.6. Thiobarbituric Acid (TBA) Analysis

TBA analysis was made according to Tarladgis et al. (1960).

2.2.6.7. Microbiological Analysis

All microbial counts were made using a 10 g sample. Nine times the weighed amount of dilution liquid was added to form a 10-1 dilution. Other decimal dilutions were prepared from the 10-1 dilution obtained by transferring 90 ml of 0.01 peptone water on the sample.

2.2.6.8. Total aerobic mesophilic bacteria count:

The total aerobic mesophilic bacteria count was made according to the AOAC, 990.12 method. 3M Petri films (3MTM 7100039374) were used for the analysis and the Petri films were incubated at 35±1 °C for 48±3 hours under aerobic conditions. The total number of aerobic mesophilic bacteria was determined by counting petri films at the end of incubation (AOAC, 1995).

2.2.6.9. Total coliform bacteria count

Total coliform bacteria counts were made according to the AOAC, 991.14 methods. 3M Petri films (3MTM 7100126846) were used for the analysis. The colonies were counted after incubating for 24±2 hours at 35±1 °C for total coliform by seeding on petri films in appropriate amounts from the prepared dilutions (AOAC, 1995).

2.2.6.10. Yeast-Mold count

Yeast-mold counting was done according to the method of AOAC, 997.02. 3M Petri films (3MTM 7100039379) were used for the analysis. The colonies were counted after incubating at 20-25 °C for 3-5 days by planting the prepared dilutions on petri films used in appropriate amounts (AOAC, 1995).

All experiments were performed in triplicate. All reagents used were of analytical grade.

2.2.6.11. Statistical analysis

In the comparison of days and groups, repeated measures of variance analysis were applied. The difference between measurement times for each group and the difference between groups at each measurement time was evaluated with a one-way ANOVA. Duncan's multiple comparison test was used to reveal the difference between the means. The results were considered significant at the p<0.05 significance level. MedCalc 17.9 package program was used for statistical analysis.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Fish Protein Hydrolysates

The relationship between the degree of hydrolysis of TH and UH obtained from sprat is presented in Figure 4. Accordingly, the maximum hydrolysis degree was determined as 22.93 ±0.08% and 25.45±0.01% for TH and UH, respectively. A rapid increase in the hydrolysis degrees of both groups was observed from the beginning of the process until approximately 20 min. Afterward, a decrease in the reaction rate was observed with a certain decrease in the degree of hydrolysis of TH. The increase in UH continued until 35th min. Then, the reaction continued at a constant rate. While the difference between the hydrolysis degrees of the groups was insignificant between the 10th and 30th min. (p>0.05), it was significant in the other stages of hydrolysis (p<0.05).

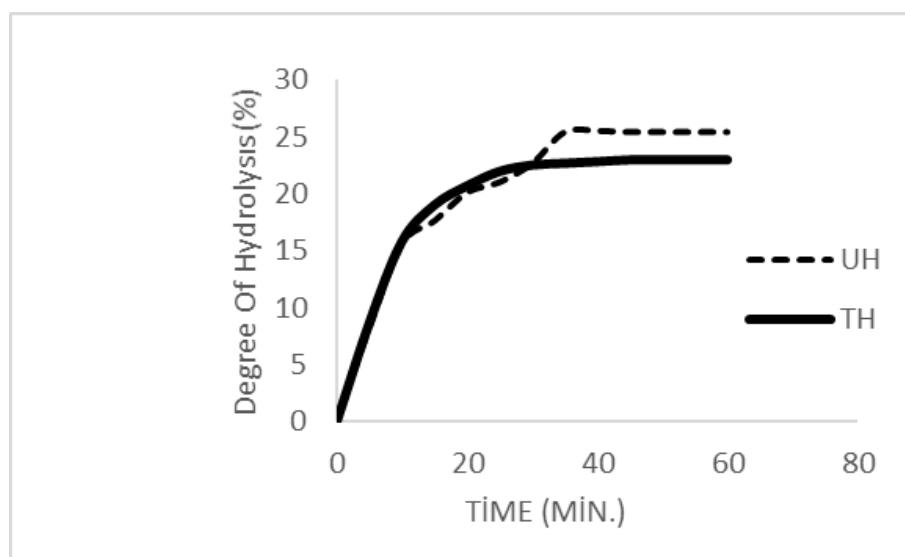


Figure 4. Degree of hydrolysis of TH and UH.

Koç (2016) calculated the hydrolysis degrees of protein hydrolysates obtained from anchovy meat and waste after 1 hour of hydrolysis; as 56.7% and 73.5%, respectively.

Huang et al. (2015) compared three different ultrasonic methods based on the production of antioxidative peptides from corn protein. The corn protein was sonicated with probe ultrasound (PU), flat plate ultrasound with sweeping frequency (FPUSF), and flat plate ultrasound with fixed frequency (FPUFF) before hydrolysis by acalase. As a result of the study, it was revealed that the hydrolysis degrees of all three ultrasound pre-applied groups were higher than the control group.

The yield, pH, and color analysis results of TH and UH are presented in Table 1. The yields of TH and UH were $8.66 \pm 0.01\%$ and $12.63 \pm 0.06\%$, respectively. The difference between these values was found to be statistically significant ($p < 0.05$).

Arslan (2016) determined the yield of protein hydrolysate produced by using alcalase from trout waste as 9.05%. Hau et al. (2018) calculated the yield of yellow-striped horse mackerel (*Selaroides leptolepis*) protein hydrolysate produced by using alcalase after freeze and spray drying as 0.6%-1.6% and 12-16% for spray drying and freeze drying, respectively. Sinthusamran et al. (2020) determined the yield of protein hydrolysates obtained from salmon fillet using 3% alcalase and flavourzyme for 180 minutes, as 28.5% and 32.3% g/100g for alcalase and flavourzyme, respectively.

It can be thought that ultrasound application together with the alcalase used in the current study positively affected the activity of alcalase and increased the hydrolysate yield.

The pH values for TH and UH were measured as 8.82 ± 0.01 and 8.66 ± 0.01 , respectively. The difference between these values is statistically significant ($p < 0.05$).

Similar results were found in the study conducted by Hu et al. (2019). The researchers reported that the ultrasound application on cuttlefish mantle did not cause any difference in the pH values of the product. Arredondo-Parada et al. (2020) investigated the physicochemical and functional properties of ultrasound-treated *Dosidicus gigas* mantle hydrolysate. They explained that the application of ultrasound at various times is affected on pH value but the difference was reported as not statistically significant. Jambrak et al. (2009) determined that 20 kHz probes and 40 and 500 kHz ultrasound applications changed the pH values of soy proteins.

Compared to the literature, it is seen that ultrasound application has different effects on meats and hydrolysates produced from different raw materials. pH changes are dependent on applied frequency, time, and various factors such as sample conditions, protein concentration, sample geometry, or dimensions. It has been shown that when used in large samples such as tissue and muscle, the application can affect the cell membrane with a more aggressive effect and cause ionic imbalance, while it does not have such an aggressive effect when used in protein solutions.

L^* , a^* , and b^* values of C, THC, and UHC are presented in Table 1. In the study, L^* and b^* values were lower, a^* value was higher in TH than UH. The differences between the L^* , a^* , b^* values of both groups were found to be statistically significant ($p < 0.05$).

Mintah et al. (2020) investigated the effects of different ultrasound applications (constant and sweeping frequency ultrasound) on the structural, physical, and functional properties of protein isolates and hydrolysates obtained from the soldier fly (*Hermetia illucens*) by enzymatic method. The researchers found the L* values of the hydrolysates to be 74.71, 74.41 and 73.52 for conventional enzymatic hydrolysate, fixed frequency pre-applied hydrolysate, and scavenging frequency ultrasound pre-applied hydrolysate, respectively. They revealed that ultrasound applications did not affect the L* values of hydrolysates significantly. The a* and b* values of the same samples differed in all 3 groups ($p<0.05$). Among these values, b* values of fixed and sweeping frequency ultrasound groups were statistically similar, while the other values differed.

Table 1. The yield, pH and color values of TH and UH.

	Yield	pH	Color		
			L*	a*	b*
TH	8.66±0.01 ^a	8.82±0.01 ^a	75.23 ±0.18 ^a	2.66± 0.01 ^a	16.49±0.18 ^a
UH	12.63±0.06 ^b	8.66±0.01 ^b	79.08 ±0.04 ^b	1.43±0.04 ^b	18.34 ±0.05 ^b

± standard error (n=3). Different letters (a, b) on the numbers in the same column indicate differences between the groups ($p<0.05$). TH: traditional hydrolysate; UH: ultrasound-assisted hydrolysate

The biochemical composition findings of the hydrolysates (TH and UH) produced from sprat are presented in Table 2.

Table 2. Biochemical composition findings of TH and UH

Hydrolysate groups	Protein	Lipid	Ash	Dry matter
TH	75.88±0.47 ^a	2.05±0.07 ^a	12.88±0.23 ^a	96.51±0.03 ^a
UH	74.45±0.28 ^a	1.51±0.03 ^b	14.97±0.08 ^b	96.55±0.03 ^a

± standard error (n=3). Different letters (a, b) on the numbers in the same column indicate differences between the groups ($p<0.05$). TH: traditional hydrolysate; UH: ultrasound-assisted hydrolysate

In the study, protein values of TH and UH were found to be around 75%. When compared with sprat used as raw material (the protein value of sprat is 14.43±0.03%, Dağtekin et al., 2021), it can be said that the protein value is due to the general characteristics of hydrolysates. It has been reported that during the hydrolysis process, its proteins become largely soluble (Chalamaiah et al., 2010). The lipid values of TH and UH lipid values were about 1.5 to 2%. This can be explained by separating the oil layer and removing it from the medium during the centrifugation and other separation processes performed after the hydrolysis process. Low lipid values are desirable in hydrolysates. Similarly, several researchers have reported the lipid content of different fish protein hydrolysates to be <5% (Benjakul and Morrissey, 1997; Kristinsson and Rasco, 2000; Wasswa et al., 2007).

It has been reported that low lipid value can prolong the shelf life of the product by delaying the deterioration due to lipid oxidation in fish protein hydrolysates (Kristinsson and Ingadottir, 2005). The ash value of UH was found to be higher than that of TH. It is thought that the high ash value may be caused by the salts coming from the alkali added to keep the pH constant during the hydrolysis process or the breakdown of raw materials such as bone and skin (Choi et al., 2009; Batista et al., 2010). Dry matter values of TH and UH were found to be very close to each other and very high since the product was dried after hydrolysis. According to these results, it was determined that ultrasound did not have a significant effect on the protein and dry matter values of hydrolysates. Similarly, Zou et al. (2016) reported that the protein values of ultrasound-treated porcine cerebral hydrolysate were higher than normal hydrolysate, but this value was not statistically significant, whereas the ash values increased statistically significantly. In the study of Koç (2016), protein, oil and ash and dry matter values based on dry matter in hydrolysates obtained from anchovy meat and waste are respectively; 83.36%, 15.38%, 10.3%, 97.98%, and 76.55%, 14.13%, 0.93% and 94.60%. Arslan (2016) determined the biochemical content of powdered protein hydrolysate made from trout wastes as 94.75±0.68% dry matter, 86.40±0.34% crude protein, 0.37±0.01% crude oil, and 6.34±0.01% raw ash.

According to the literature above, it has been reported that the protein content of protein hydrolysates obtained from various aquatic products and by-products varies between 70.0% and

90.0% on average. When evaluated in general, it is concluded that different process parameters such as raw material, enzyme type and rate, hydrolysis time, and temperature used during the production of hydrolysate can greatly affect the biochemical composition of the obtained hydrolysates. However, in the current study, similar to the literature, it was revealed that ultrasound application did not perform a statistically significant change on the chemical composition of protein hydrolysates.

Three different concentrations of hydrolysates were used in the analyzes made with the DPPH method. According to this, the DPPH radical scavenging activity levels of TH are as % inhibition for three different concentrations of 10%, 15%, and 20%, respectively; 11.83; 21.52 and 31.54; 23.96 for UH, respectively; It was determined as 27.90 and 30.96. It was observed that the antioxidant activity value increased as the hydrolysate concentration increased. It was determined that antioxidant levels of TH and UH showed a significant difference in all three concentrations ($p<0.05$). When the two hydrolysate groups were compared, it was determined that only 20% of concentration values showed similarity ($p>0.05$) (Figure 5).

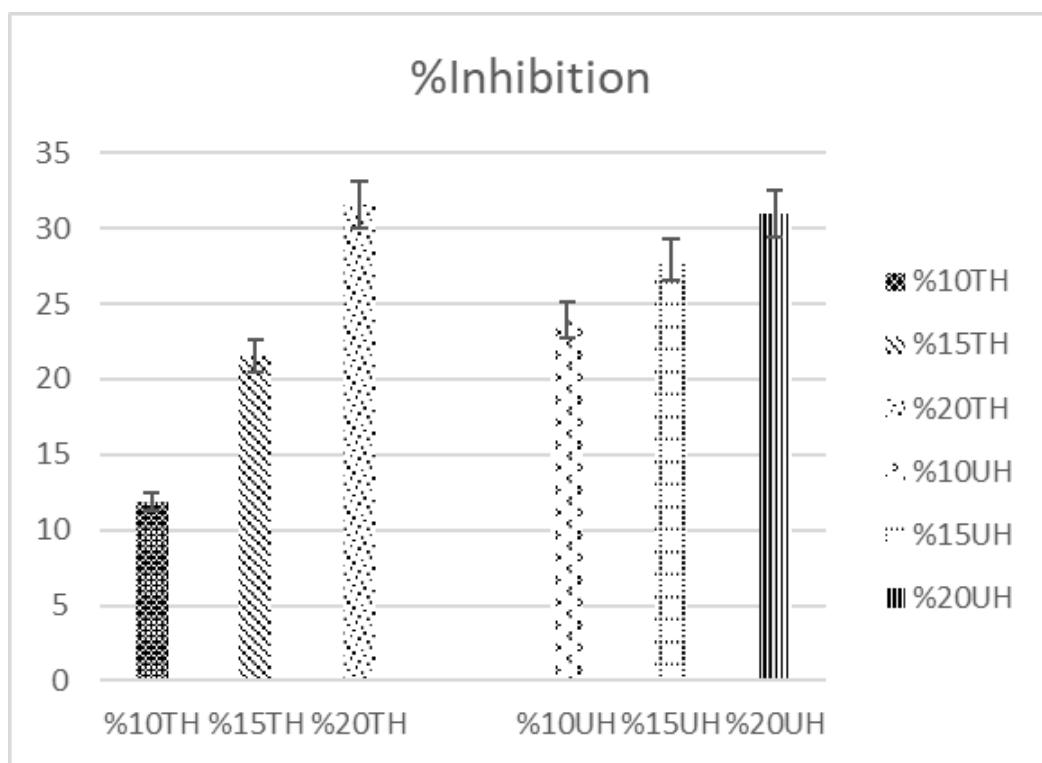


Figure 5. Antioxidant activities of TH and UH.

3.2. Coated Fillets

a_w and pH values of C, THC, and UHC are presented in Figure 6. According to the results, a_w value of fresh trout, which was 0.9981, decreased with similar values in all groups during storage. The lowest a_w value was recorded as 0.9680 on the 12th day in the THC. When a_w values of the groups were evaluated statistically, it was determined that the differences between the groups were significant ($p<0.05$). The differences between a_w values of C and UHC on the 12th day were insignificant ($p>0.05$), and significant on the other days ($p<0.05$).

Although these conditions allow many microorganisms to grow in the medium for all groups, the fact that the decreases are not significant also shows that no significant changes have occurred in the fillets' tissues. It has been reported that a_w value alone is not sufficient to reveal the quality status of the product (Karaçalı, 2002).

Linn et al. (2021) treated the catfish fillets with different coatings (distilled water, chitosan, alginate, and a combination of these materials). The water activity of fillets was increased gradually from 0.9916 to the maximum value of 0.9941 for the control sample. The researchers attributed the higher water activity of the control samples, compared to the coated groups, to moisture migration by edible coatings on the fish surface. When compared with the literature, it is seen that there are

similarities between the studies using FPH, and differences when polysaccharide-based products are used.

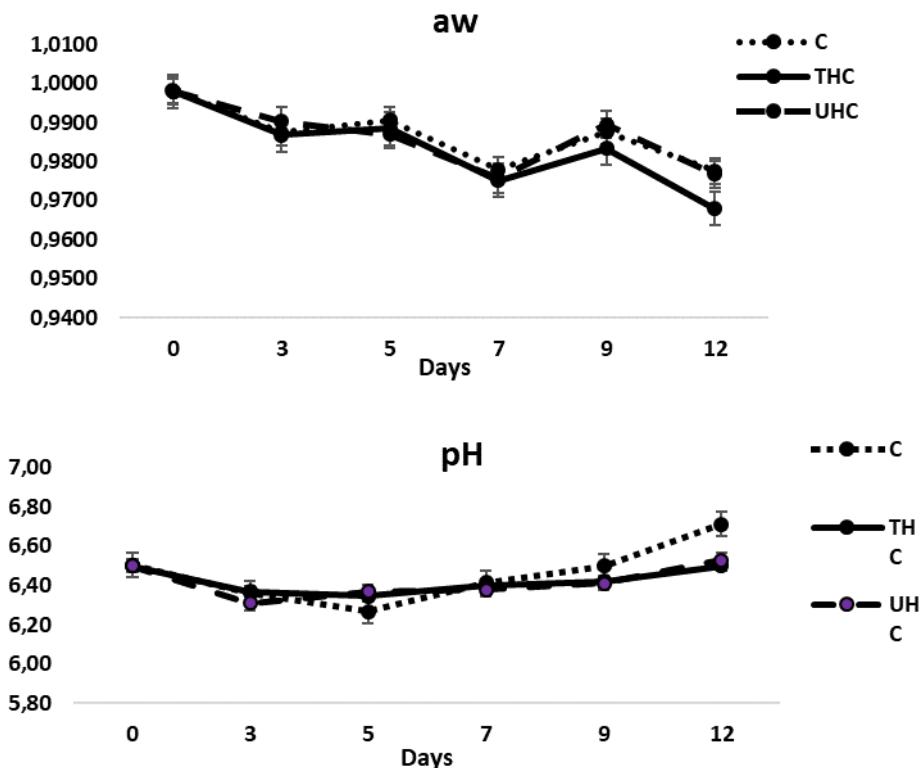


Figure 6. a_w and pH values of C, THC, and UHC

The pH value, which was 6.5 at the beginning, decreased until the 5th day and increased from this day to the 12th day. The minimum and the maximum pH value was determined at C as 6.26 and 6.71 on the 5th and 12th day, respectively. The differences between the pH values of C, THC, and UHC were insignificant on days 0, 3, and 7 ($p>0.05$). On the fifth, 9th, and 12th days, THC and UHC were insignificant ($p>0.05$), while C was significant ($p<0.05$).

The increase in pH values was higher in C, lower and close to each other in THC and UHC. However, this increase in pH remained within consumable limits throughout storage, including the last day. It is thought that the conversion of glycogen to lactic acid during storage may have caused the pH value to decrease. The formation of nitrogenous compounds such as ammonia, trimethylamine, and histamine, which are derived from both autolysis by endogenous enzymes and microbial enzymatic activities, may have caused the pH value to increase.

A similar trend was found by Sun et al. (2019). They investigated the effects of fish gelatin coating, enriched with curcumin/ β -cyclodextrin (CUR/ β CD), on grass carp fillets during storage at +4 °C. The authors expressed that the pH values of the fillets increased during the first 3 days and decreased rest of storage. However, while the decrease in the values of the control group was less, the increase was higher than the other groups. Linn et al. (2021) found that the pH value increased continuously during 21 days of storage in the control and all coated groups.

The L*, a*, and b* values for C, THC, and UHC are given in Figure 7. Accordingly, L*, a*, b* values of fresh trout were determined as 41.92, 10.15, and 20.25, respectively on day 0. The maximum L* value was 47.94, in C on the 12th day of storage; the minimum L* value was 39.33, recorded in UHC on the 7th day of storage.

The differences; in L* values were not significant in all groups on the 0th, 9th, and 12th days of storage ($p>0.05$); a* values were also found to be insignificant in all groups at 0, 5, 9, and 12 days of storage ($p<0.05$); and b* values were found to be insignificant in all groups on the 7th day of storage ($p>0.05$).

The L* value, which remained similar for the first 9 days in C, reached the highest value on the 12th day of storage and the fillets took on a darker color. In the case of THC and UHC L* values showed more fluctuations, although they did not change much. In general, L* values of all groups were close to each other during storage. The a* and b* values of the fillets followed a fluctuating trend with a similar value throughout storage. Increases in a* values indicate an increase in the redness of the fillets, while increases in b* values represent yellowing. It can be said that the increase in b* values may have occurred due to the lipid and protein oxidation of the fillets.

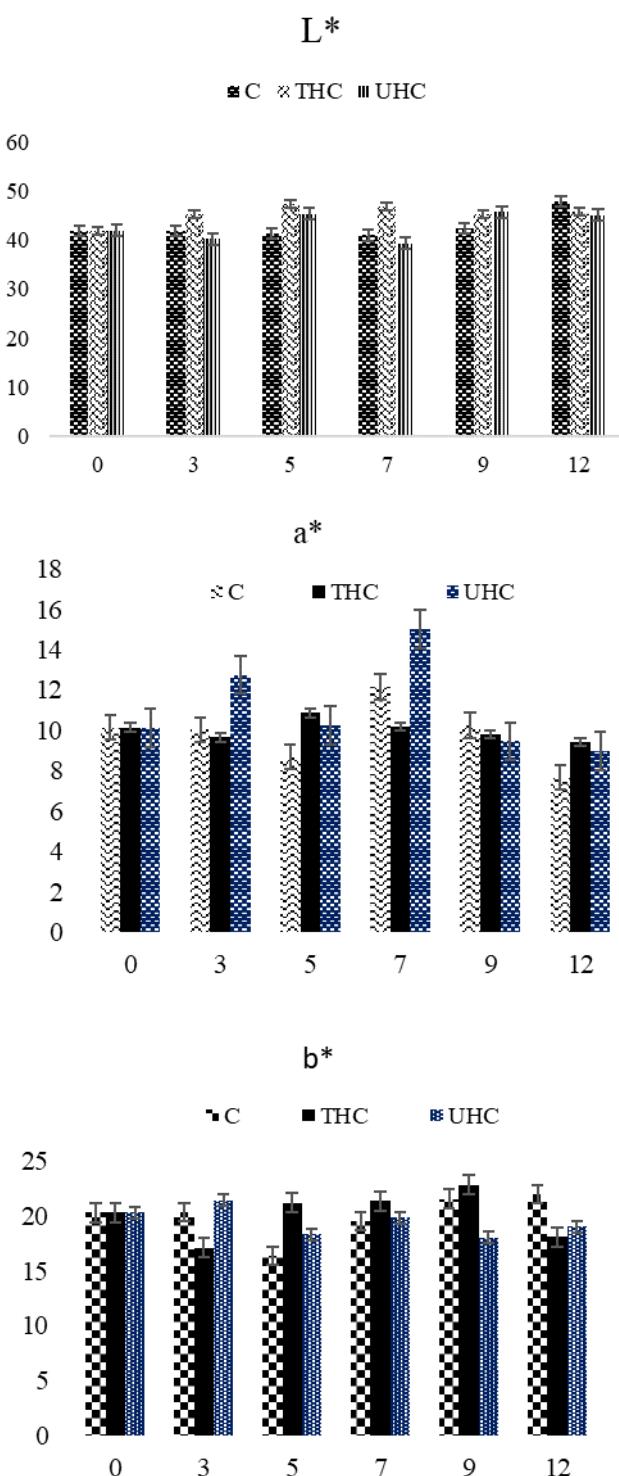


Figure 7. Color parameters (L*, a* and b*) of C, THC and UHC

The changes in TVB-N and TBA values for C, THC, and UHC, are given in Table 3 and Table 4, respectively. While the TVB-N value of fresh trout was 12.96 mg/100g, it increased over time in all three groups. In the C, it exceeded the consumable limit with 38.52 mg/100g on the 9th day of storage. It was determined that the differences between all days of TVB-N values of C during storage were significant ($p<0.05$).

TVB-N values of THC and UHC were statistically similar at 0, 3, 9, and 12 days of storage ($p>0.05$) but were significantly lower than C ($p<0.05$). It differed significantly in all groups on the 5th and 7th days ($p<0.05$), and the highest values on these days belonged to C.

In the current study, TVB-N values increased in all groups due to bacterial and enzymatic deterioration during storage, but this increase was lower in THC and UHC than in C. It exceeded the consumable limit in C on the 9th day of storage. While it did not reach the limit value in THC and UHC on the 12th day of storage. This can be explained by the fact that TFPN and UFPH may have effectively delayed the microbial degradation of protein and nitrogen-containing components. However, the absence of a significant difference between THC and UHC can be considered a sign that ultrasound application does not show a significant superiority over THC.

Table 3. TVB-N values of C, THC, and UHC during the storage at +4 °C

Days	TVB-N		
	C	THC	UHC
0	12.96±0.23 ^{aA}	12.96±0.23 ^{aA}	12.96±0.23 ^{aA}
3	16.11±0.43 ^{bB}	13.66±0.18 ^{aA}	14.01±0.05 ^{aA}
5	24.51±0.37 ^{cC}	21.71±0.43 ^{bb}	18.21±0.72 ^{bA}
7	31.52±0.37 ^{dC}	23.11±0.37 ^{cA}	24.51±0.37 ^{cB}
9	38.52±0.37 ^{eB}	30.12±0.37 ^{dA}	31.52±1.16 ^{dA}
12	41.32±1.18 ^{fB}	32.92±0.37 ^{eA}	33.62±0.20 ^{eA}

± Indicates the standard error (n=3). Different lowercase letters (a, b, c..) in the same column show the differences between different days of the same group ($p<0.05$), and different uppercase letters (A,B,C...) in the same row show the differences of different groups on the same days. C: uncoated control group, THC: traditional enzymatic protein hydrolysate coated group, UHC: ultrasound-assisted enzymatic protein hydrolysate coated group

Yu et al. (2021) investigated the effects of ultrasound-assisted chito-oligosaccharide coating (COS-UA) on the quality of chilled grass carp fillets. It was reported that the TVB-N value increased slowly in all groups until the 3rd day of the study and this increase was statistically insignificant, and the TVB-N value of the control group increased sharply in the following days. Barcellos et al. (2020) investigated the effect of protein hydrolysate obtained from commercial fish gelatin on rainbow trout fillets that were vacuum-packed and stored in refrigerator conditions. It was reported that although there was a difference in TVB-N values and bacterial deterioration between the control and hydrolysate groups, these differences were statistically insignificant, and optimization of the procedures was needed. In the study, the hydrolysate was applied by injecting it into the vacuum package. The application difference because the fish were not directly exposed to the hydrolysate solution suggests that the results may have been obtained in different directions.

While TBA values were calculated as 0.21 mg MA/kg at the beginning of storage, it reached the consumable limit with 7.72 mg MA/kg in C on the 9th day. On the same day, this value remained within the consumable limit with 6.67 mg MA/kg and 6.79 mg MA/kg for THC and UHC, respectively.

According to the statistical analysis between the groups, the TBA values of THV and UHC showed significant differences on the 3rd, 5th, and 7th days of storage ($p>0.05$), and insignificant on the 9th and 12th days ($p>0.05$). TBA values of C were significantly higher than THC and UHC during the whole storage ($p<0.05$).

Table 4. TBA values of C, THC and UHC during the storage at +4 °C

Days	TBA		
	C	THC	UHC
0	0.21±0.00 ^{aA}	0.21±0.01 ^{aA}	0.21±0.00 ^{aA}
3	1.36±0.50 ^{bC}	0.96±0.02 ^{bB}	0.84±0.02 ^{bA}
5	3.46±0.50 ^{cC}	2.93±0.01 ^{cA}	3.18±0.01 ^{cB}
7	5.02±0.53 ^{dC}	3.34±0.02 ^{dA}	4.68±0.05 ^{dB}
9	7.72±0.57 ^{eB}	6.67±0.02 ^{eA}	6.79±0.05 ^{eA}
12	9.13±0.16 ^{fB}	8.19±0.06 ^{fA}	7.96±0.01 ^{fA}

± Indicates the standard error (n=3). Lowercase letters (a, b, c) in the same column show the differences between different days of the same group ($p<0.05$), and uppercase letters (A,B,C...) in the same row show the differences of different groups on the same days. C: uncoated control group, THC: traditional enzymatic protein hydrolysate coated group, UHC: ultrasound-assisted enzymatic protein hydrolysate coated group

It has been reported that the increase in TBA value is associated with the presence of oxygen (Cai et al., 2014). It can be said that the coating layer formed on the fillet surface is effective in reducing the secondary products of lipid oxidation, so the increase in TBA values is lower than the C depending on the coating materials used. Although the antioxidant activity of UFPH was higher than GFPH in the antioxidant activity analyses performed on protein hydrolysates, it was observed that it did not provide significantly better protection than GFPH when applied to fillets.

Parvathy et al. (2018) reported that the TBA value of the control group reached 5.14 mg manolaldehyde/kg on the 5th day of storage. However, it was determined that the increase in TBA value in the coated groups was significantly less than in the control group and remained within the consumable limits until the 11th day.

It has been reported in the literature that coating and film materials, which can show higher potential in in-vitro studies, show lower activity when applied to foods. It has been stated that the reason for this is that a more complex matrix is formed when the coating material combines with food (Kulawik et al., 2019). This explains why newly developed coatings and films need to be tested on foods. de Abreu et al. (2011) also encountered similar results in their study.

In the study, TAMB, TAPB, coliform bacteria, and yeast mold (Figure 8) analyses were performed for C, THC, and UHC. While the number of TAMB was 2.13 log cfu/g on day 0, it increased during storage in all groups. The maximum TAMB value was calculated at 6.90 log cfu/g and C on the 12th day, it was determined as 5.20 log cfu/g and 5.04 log cfu/g for THC and UHC on the same day, respectively.

It was determined that the differences between the TABM values of all three groups were significant on the same days during the entire storage period ($p>0.05$).

The number of TAPB, which was 1.66 log cfu/g at the beginning, increased during storage and reached a maximum of 6.95, 3.48, and 3.22 log cfu/g for C, THC, and UHC on the 12th day, respectively.

The number of coliform bacteria, which was 1.66 log cfu/g on 0. day, increased in all groups during storage. This value reached 4.54 log cfu/g, 2.56 log cfu/g, and 2.86 log cfu/g, respectively, for C, THC, and UHC on the 12th day. The differences between different days of each group were found to be significant ($p>0.05$).

According to the statistical analysis between the groups, it was determined that the differences between the Coliform bacteria values of all groups were significant on the same days during the entire storage period ($p>0.05$).

The yeast-mold count was 1.66 log cfu/g on 0. day, and reached its maximum values 4.60 log cfu/g, 2.74 log cfu/g, and 2.74 log cfu/g for C, THC, and UHC on the 12th day of storage, respectively.

The differences between different days of each group were found to be significant ($p>0.05$).

When the statistical analysis between the groups was examined, it was determined that the differences between the yeast-mold values of all groups were significant on the same days during the entire storage period ($p>0.05$).

Throughout the study, increases were observed in the number of TAMBS of C, THC, and UHC. These increases were also in parallel with the TVB-N values and were higher in C than in THC and UHC (Table 3). As of the 12th day of the study, the number of TAMBS determined for C reached the

consumable limit, whereas it remained around 5 log cfu/g for THC and UHC. However, the TAMB values of UHC were significantly lower than those of the THC.

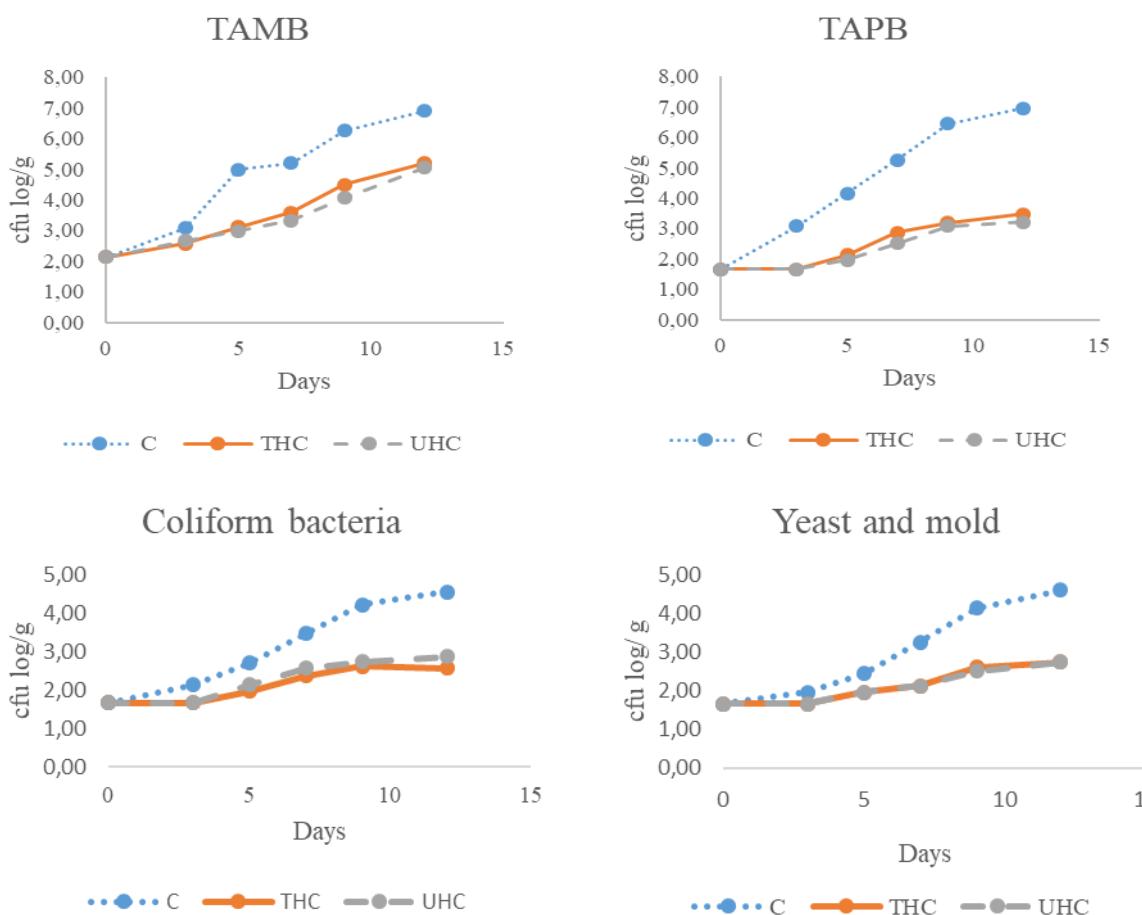


Figure 8. TAMB, TAPB, Coliform, Yeast, and Mold counts of C, THC, and UHC

A similar trend was obtained in TAPB numbers, reaching the consumable limit for C on the 12th day. On the same day, it remained within the acceptable limits in terms of consumables with 3.48 log cfu/g and 3.22 log cfu/g for THC and UHC, respectively. It can be said that the growth of microorganisms may have been prevented in this environment, where the coating materials cover the fish surface and create a barrier between the fillet and the external environment, preventing the passage of oxygen. A similar trend was also observed in coliform bacteria and yeast-mold numbers. However, the increases are significantly higher for C compared to other groups.

Gómez-Guillén et al. (2011) reported that fish gelatin hydrolysate showed bacteriostatic and bactericidal properties. However, it has also been reported that edible coatings can act as a rich nutrient medium for bacteria in some products and support microbial growth (Sardari and Nordberg Karlsson, 2018).

The low levels of coliform bacteria can be explained by the low storage temperatures during the fish slaughtering process and the time it takes to take their place on the shelves (Junior et al., 2014). On the other hand, high contamination with coliform bacteria is mostly associated with environmental factors related to fish farming, such as the degree of contamination of the water and the feeding of fish.

4. CONCLUSION

In the current study, it has been demonstrated that the protein hydrolysate produced from sprat can be used as a coating material in cold-stored fish fillets, which can extend the storage period of the fillets. Compared with the control group, it was revealed that the coating materials prepared with UH

and TH can effectively protect the trout fillets microbiologically and chemically and prolong the storage period, therefore the hydrolysates obtained from sprat can be used as a coating material for fillet fish. It is thought that different results can be obtained with studies that can be done by changing the ultrasound application parameters.

ACKNOWLEDGEMENT

A part of this study was presented as an oral presentation at 6. National Trout Symposium held in Isparta, Türkiye, on 15/16 Sept. 2022.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

FUNDING

This research study is a part of the Project “The Effect of Ultrasound Assisted Protein Hydrolysate Production and the Possibility of Use in Some Processed Foods” with the Project number “TAGEM/HSGYAD/B/19/A3/P3/1024” and that was funded by Republic of Türkiye Ministry of Agriculture and Forestry General Directorate of Agricultural Research and Policies.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

GBM: Fiction, Literature, Performing the experiment, Manuscript writing, BBD: Performing the experiment, Data analysis, SK: Performing the experiment. All authors approved the final draft.

ETHICAL APPROVAL STATEMENTS

Local Ethics Committee Approval was not obtained because experimental animals were not used in this study.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data supporting the findings of the present study are available from the corresponding author upon reasonable request.

REFERENCES

- Abreu, D.A.P., De Losada, Maroto, P.P.J., & Cruz, J.M. (2011). Lipid damage during frozen storage of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) in active packaging film containing antioxidants, *Food Chemistry*, 126, 315-320
- Amanatidou, A., Schlüter, O., Lemkau, K., Gorris, L.G.M., Smid, E.J. & Knorr, D. (2000). Effect of combined application of high-pressure treatment and modified atmospheres on the shelf life of fresh atlantic salmon, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 1, 87-98.
- Anal, A. K. (2017). Food processing by-products, in B. Tiwari, N. P. Brunton, & C. S. Brennan (Eds.), *Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction* (pp. 180-192). Wiley Science, Oxford.
- Arredondo-Parada, I., Torres-Arreola, W., Guadalupe, M. Suárez-Jiménez, J. C. Ramírez-Suárez, J., Juárez-Onofre, E., Rodríguez-Félix F. & Marquez-Rios,E. (2020). Effect of ultrasound on physicochemical and foaming properties of a protein concentrate from giant squid (*Dosidicus gigas*) mantle. *LWT*, 121, 108954, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108954>
- Antonacopoulos, N. & Vyncke, W. (1989). Determination of volatile basic nitrogen in fish: A third collaborative study by the West European Fish Technologists' Association (WEFTA). *Z Lebensm Unters Forch*, 189, 309–316. <https://doi.org/10.1007/BF01683206>
- AOAC. (1995). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Association of Official Analytical Chemists.
- Arslan, E. (2016). *Determination of some quality changes during cold storage of rainbow trout fillets coated with powder protein hydrolysate obtained by-products of rainbow trout* [Master's Thesis, Recep Tayyip Erdoğan University].
- Balcık Mısırlı, G. & Koral, S. (2021). The impacts of ultrasound-assisted protein hydrolysate coating on

- the quality parameters and shelf life of smoked bonito fillets stored at 4 ± 1 °C. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 38, 427–435.
- Barcellos, C. C. C., Bassil, P. E., Duarte, M. C. K. H., Franco, R. M., Keller, L. A. M., & Mesquita E. D. F. M. D. (2020). The effect of the commercial fish gelatin protein hydrolysate on rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*) fillet quality. *Food Sci Technology*, 40, 929–37. <https://doi.org/10.1590/fst.20119>
- Batista, I., Pires, C., & Nelhas, R. (2010). Extraction of sardine proteins by acidic and alkaline solubilization. *Food Science and Technology International*, 13, 189, <https://doi.org/10.1177/1082013207079619>
- Benjakul, S., & Morrissey, M. T., (1997). Protein Hydrolysates from Pacific Whiting Solid Wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3423–30.
- Biji, K. B., Ravishankar, C. N., Mohan, C. O. & Gopal, T. K. S. (2015). Smart packaging systems for food applications: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 6125–6135. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1766-7>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28, 1, 25-30 [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cai, L., Wu, X., Dong, Z., Li, X., Yi, S., & Li, J. (2014). Physicochemical responses and quality changes of red sea bream (*Pagrosomus major*) to gum Arabic coating enriched with ergothioneine treatment during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 160, 82-89.
- Chalamaiyah, M., Narsing, R. G., Rao, D. G., & Jyothirmayi, T. (2010). Protein hydrolysates from meriga (*cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. *Food Chemistry*, 120, 652–657.
- Choi, Y.J., Hur, S., Choi, B.-D., Konno, K., & Park, J.W. (2009). Enzymatic hydrolysis of recovered protein from frozen small croaker and functional properties of its hydrolysates. *Journal of Food Science*, 74, C17-C24. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00988.x>
- Code Of Federal Regulations (CFR), (2003). *The CRC Master Keyword Guide for Food: 21 CFR Regulations of the Food and Drug Administration 2003-2004*. CRC Press, Taylor & Francis Group.
- Dağtekin B. B., Balçık Mısı̄r, G., Kutlu, S., & Yeşilsu, A. F. (2021). Determination of Storage Stability of Protein Isolates and Hydrolyzates Obtained from Sprat (*Sprattus sprattus* L., 1758), TAGEM/HSGYAD/B/18/A3/P4/402, 73 pp.
- Erkan, N., Doğruyol, H., Günlü, A., & Genç, İ. Y. (2015). Use of natural preservatives in seafood: Plant extracts, edible film and coating. *Journal of Food and Health Sciences*, 1, 33–49. <https://doi.org/10.3153/JFHS15004>
- FAO, (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Ghanbari, M., Jami, M., Domig, K. J., & Kneifel, W. (2013). Seafood bio-preservation by lactic acid bacteria-A review. *LWT-Food Science and Technology*, 54, 315-324.
- Gobantes, I. Choubert, G., & Gomez, R. (1998). Quality of pigmented (astaxanthin and canthaxanthin) rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) fillets stored under vacuum packaging during chilled storage. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 46, 4358- 4362.
- Gomez-Guille, M. C., Gimenez, B., Lopez, C. M. E., & Montero, M. P. (2011). Functional bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids*, 25, 1813-1827.
- Hau, E. H., Zin, M. Z., Zuraidah, N., Shaharudin, N. A., & Zainol, M. K. (2018). Physicochemical properties of powdered protein hydrolysate from Yellowstripe scad (*Selaroides leptolepis*) fish. *International Food Research Journal*, 25(6), 2553-2559.
- Hoek, A.C., Malekpour, S., Raven, R., Court, E., & Byrne, E. (2021). Towards environmentally sustainable food systems: decision-making factors in sustainable food production and consumption. *Sustainable Production and Consumption*, 26, 610-626.
- Huang, L., Dai, C., Li, Z., & Ma, H. (2015). Antioxidative Activities and Peptide Compositions of Corn Protein Hydrolysates Pretreated by Different Ultrasesic Methods, *Journal of Food and Nutrition Research*, 3(7), 415–421. <https://doi.org/10.12691/jfnr-3-7-2>

- Jambrak, A. R., Lelas, V., Mason, T. J., Krešić, G., & Badanjak, M. (2009). Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 386–393. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.02.001>
- Junior, P. G., Assunção, A. W. A., Baldin, J. C., & Amaral, L. A. (2014). Microbiological quality of whole and filleted shelf-tilapia. *Aquaculture* 433, 196-200. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.06.015>
- Kangsanant, S., Murkovic, M., & Thongraung, C. (2014). Antioxidant and nitric oxide inhibitory activities of tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate: effect of ultrasonic pretreatment and ultrasonic-assisted enzymatic hydrolysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(8), 1932-1938. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12551>
- Karaçalı, İ., (2002). *Meyve ve sebze değerlendirme*. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 19, Ofset Basımevi.
- Koç, S. (2016). A study on nutritional, functional and bioactive properties of protein hydrolysates from anchovy (*Engraulis encrasicolus*) flesh and by-products [Ph.D. Thesis, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversity].
- Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Biochemical and Functional Properties of Atlantic Salmon (*Salmo Salar*) Muscle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 657–666.
- Kristinsson, H. G., & Ingadottir, B. (2005). Recovery and properties of muscle proteins extracted from tilapia (*Oreochromis niloticus*) light muscle by pH shift processing. *Journal of Food Science*, 71(3), 132-141. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.tb15626.x>
- Kulawik, P., Jamróz, E., Zajac, M., Guzik, P., & Tkaczewska, J. (2019). The effect of furcellaran-gelatin edible coatings with green and puerh tea extracts on the microbiological, physicochemical and sensory changes of salmon sushi stored at 4 °C. *Food Control*, 100, 83-91. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.01.004>
- Linn, N. C. C., Waiprib, Y., & Wilaipun, P. (2021). Shelf-life extension of refrigerated hybrid catfish (*clarias macrocephalus × clarias gariepinus*) fillet by chitosan- and alginate-based edible coatings. *Journal of Fisheries and Environment*, 45(3), 77-88.
- Loi, C. C., G. T. Eyres, and E. J. Birch. 2019. Effect of milk protein composition on physicochemical properties, creaming stability and volatile profile of a protein-stabilised oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 120, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.02.026>
- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gomez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C., & Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products – A review. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 136-147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Ludorff, W., & Meyer, V. (1973). *Fische und Fisherzeugnisse*. Z. Auflage. Verlag Paul Parey in Berlin und Hamburg, 209-210.
- Mattissek, R., Shengel, F. M., & Steiner, G. (1988). *Lebensmittel-Analytik*. Springer Verlag Berlin, Tokyo.
- Mintah, B. K., He, R., Dabbour, M., Xiang, J., Hui, J., Agyekum, A. A., & Ma, H. (2020). Characterization of edible soldier fly protein and hydrolysate altered by multiple-frequency ultrasound: Structural, physical, and functional attributes, *Process Biochemistry*, 95, 157-165. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.05.021>
- Parvathy, U., Nizam, K.M., Zynudheen, A.A., Ninan, G., Panda, S. K., & Ravishankar, C. N. (2018). Characterization of fish protein hydrolysate from red meat of *Euthynnus affinis* and its application as an antioxidant in iced sardine, *Journal of Scientific & Industrial Research*, 77, 111-119.
- Rodriguez-Turienzo, L., Cobos, A. & Diaz, O. (2012). Effects of edible coatings based on ultrasound-treated whey proteins in quality attributes of frozen Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 14, 92-98. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.12.003>
- Sardari, R. R. R., & Nordberg Karlsson, E. (2018). Marine poly and oligosaccharides as prebiotics. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 66, 11544-11549.
- Sathivel, S., (2005). Chitosan and protein coatings affect yield, moisture loss, and lipid oxidation of

- pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) fillets during frozen storage. *Food Engineering and Physical Properties*, 70(8), E455-E459.
- Şimat, V., Čagalj, M., Skroza, D., Gardini F., Tabanelli, G., Montanari, C., Hassoun, A., & Özogul, F. (2021). Chapter two - Sustainable sources for antioxidant and antimicrobial compounds used in meat and seafood products, *Advances in Food and Nutrition Research*, 94, 55-118. <https://doi.org/10.1016/BS.AFNR.2021.03.001>
- Sinthusamran, S., Benjakul, S., Kijroongrojana, K., & Prodpran, T. (2019). Chemical, physical, rheological and sensory properties of biscuit fortified with protein hydrolysate from cephalothorax of Pacific white shrimp. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1145-1154.
- Sohaib, M., Anjum, F. M., Sahar, A., Arshad, S., Rahman, U. U., Imran, A., Hussain, S., Sohaib, M., Anjum, F. M., & Sahar, A. (2017). Antioxidant proteins and peptides to enhance the oxidative stability of meat and meat products: a comprehensive review, *International Journal of Food Properties*. 20(11), 2581-2593.
- Sun, X., Guo, X., Ji, M., Wu, J., Zhu, W., Wang, J., Cheng, C., Chen, L., & Zhang, Q. (2019). Preservative effects of fish gelatin coating enriched with CUR/βCD emulsion on grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) fillets during storage at 4 °C. *Food Chemistry*, 272, 643-652. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.040>
- Tarladgis, B. G., Watts, B. M., Younathan, M. T. & Dugan, L. (1960). A distillation method for the quantitative determination of malonaldehyde in rancid foods. *Journal of American Oil Chemistry Society*, 37, 44-48. <https://doi.org/10.1007/BF02630824>
- Tiwari, A., & Khawas, R. (2021). Food Waste and Agro By-Products: A Step towards Food Sustainability. In A. O. de Barros & I. Gouvinhas (Eds.), *Innovation in the food sector through the valorization of food and agro-food by-products*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.96177>
- Varlık, C., Uğur, M., Gökoğlu, N., & Gün, H. (1993). *Su ürünlerinde kalite kontrol ilke ve yöntemleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.
- Wasswa, J., Tang, J., Gu, X., & Yuan, X., (2007). Influence of the Extent of Enzymatic Hydrolysis on the Functional Properties of Protein Hydrolysate from Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*) Skin. *Food Chemistry*, 104, 1698–1704.
- Wrolstad, R. E., Acree, T. E., Decker, E. A., Penner M. H., Reid, D. S., Schwartz, S. J., Shoemaker, C. F., Smith, D. M., & Sporns, P. (2005). *Handbook of Food Analytical Chemistry*. Wiley - Interscience.
- Yu, D., Regenstein, J. M., & Xia, W. (2019). Bio-based edible coatings for the preservation of fishery products: A review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 2481-2493.
- Zou, Y., Wang, W., Li, Q., Chen, Y., Zheng, D., Zou, Y., Zhang, M., Zhao, T., Mao, G., Feng, W., Wu, X., & Yang, L. (2016). Physicochemical, functional properties and antioxidant activities of porcine cerebral hydrolysate peptides produced by ultrasound processing. *Process Biochemistry*, 51(3), 43-443.

Length-Weight Relationship and Condition Factor of the *Mastacembelus simack* (Bank & Solander, 1794) at Different Locations on the (Tigris and Murat Rivers) Türkiye

Mastacembelus simack (Banks & Solander, 1794) Türünün Farklı Lokasyonlardaki (Dicle ve Murat nehirleri) Boy-Ağırlık İlişkisi ve Kondisyon Faktörü

Mustafa Koyun^{1,3} , Nurgül Şen-Özdemir^{2*} , Fatma Caf² 

¹Bilecik Şeyh Edebali University, Faculty of Science and Art, Department of Molecular Biology and Genetics, Bilecik, Türkiye

²Bingöl University, Vocational School of Food, Agriculture and Livestock, Department of Veterinary Medicine, Türkiye

³Bingöl University, Department of Biology, Faculty of Science and Art, Bingöl, Türkiye

*Corresponding Author: nsozdemir@bingol.edu.tr

Received: 26.10.2022

Accepted: 02.05.2023

Published: 01.09.2023

How to Cite: Şen Özdemir, N., Caf, F., & Koyun, M. (2023). Length-weight relationship and condition factor of the *Mastacembelus simack* (Bank & Solander, 1794) at different locations on the (Tigris and Murat rivers) Türkiye. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 235-245. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1194399>

Abstract: In this study, the length-weight relationship (LWR) and condition factor (CF) of Mesopotamian spiny eel *Mastacembelus simack* (Banks & Solander, 1794) caught from the Tigris River and Murat River basins between 2014 and 2016 were investigated. While the length of the fishes ranged between 24.00 and 67.40 cm for Tigris basin and 27.20 and 60.50 cm Murat basin, the weights changed between 31.70 and 585.30 g for Tigris basin and 38.20 and 385.00 g for Murat basin. It was determined positive allometric growth in individuals with a length of between 27.20 and 31.80 cm ($b=3.54$) in Murat Basin, 41.20 and 52.80 cm ($b=3.27$), and 53.70 and 67.40 cm ($b=4.77$) in Tigris Basin, while negative allometric growth ($b<3$) was determined in total all samples of both basins. The length-weight relationship was found as $W=0.005L^{2.73}$ ($R^2=0.94$) for Tigris and $W=0.005L^{2.75}$ ($R^2=0.97$) for Murat rivers. Average CF has the same value (CF=19) for Tigris and Murat rivers basin fish.

Keywords

- Mesopotamian spiny eel
- LWR
- CF
- Negative allometric

Özet: Bu çalışmada, 2014-2016 yılları arasında Dicle Nehri ve Murat Nehri havzalarından yakalanan Mezopotamya dikenli yılan balığı *Mastacembelus simack*'in (Banks & Solander, 1794) boy-ağırlık ilişkisi (LWR) ve kondisyon faktörü (CF) araştırılmıştır. İncelenen balıkların toplam boy ve ağırlıkları Dicle Havza'sında 24.00 ve 67.40 cm ile 31.70 ve 585.30 gr arasında, Murat Havzası'nda 27.20 ve 60.50 cm ile 38.20 ve 385.00 g arasında değişmektedir. Her iki havzadaki toplamda tüm örnekler için negatif allometrik büyümeye ($b<3$) belirlenirken, Murat Nehri'nde boyu 27.20 ile 31.80 cm ($b=3.54$), Dicle Havzasında 41,20 ile 52,80 cm ($b=3.27$) ve 53,70 ile 67,40 cm ($b=4.77$) arasında olan bireyleerde pozitif allometrik büyümeye belirlenmiştir. Boy-ağırlık ilişkisi Dicle Havzası'nda $W=0.005L^{2.73}$ ($R^2=0.94$) ve Murat Nehri'nde $W=0.005L^{2.75}$ ($R^2=0.97$) olarak bulunmuştur. Dicle ve Murat nehri havzalarındaki balıklar, ortalama aynı CF değerlerine sahiptirler (CF=19).

Anahtar kelimeler

- Mezopotamya dikenli yılan balığı
- LWR
- CF
- Negatif allometrik

1. INTRODUCTION

Mastacembelus simack (Spiny eel) is a species from the family Mastacembelidae (Kottelat, 2022). It is an endemic freshwater fish species living in the Euphrates and Tigris rivers (Coad, 1996). Spiny eel is economically important and palatable as a table fish, and demand for fish almost always exceeds supply, especially in northern and eastern India where people love alive and less bony fish (Serajuddin, 2005). Similarly, spiny eel species of Mastacembelidae are also considered delicious, excellent food, and aquarium fish in the Asian subcontinent (Narejo et al., 2003). Additionally, it is used as a native aquarium fish in America, Europe, and Asian countries in terms of ornamental value (Sugunan et al., 2002; Tripathi, 2004; Gupta & Banerjee, 2014). It is also consumed as food in Türkiye and an important source of income for commercial fishing (Oymak et al., 2009). They



generally live in lotic and lentic systems with muddy and sandy bottoms where vegetation is plentiful and altitude is low (Froese & Pauly, 2023; Coad, 2021). Additionally, they hide in plants or are buried in the bottom mud to protect themselves during the day (Kara et al., 2014; Vreven & Teugels, 2005; Jalali et al., 2008). Mesopotamian spiny eel is distributed in Tigris, Euphrates, and Asi River systems (Dağlı & Erdemli, 2009; Geldiay & Balık, 2009). The Mesopotamian spiny eel was reported (Koyun et al., 2018; Koyun & Çelik, 2020) in Göynük Stream (Bingöl) from Murat River, in the Aksu, Merzimen, Ambar, Sinnepe streams from Euphrates Basin (Kalaycı & Durmaz, 2022), in Başur, Zarova and Bağlıca streams and Rotan River (Siirt) from Tigris Basin, and in the Amber Stream (Diyarbakır) (Kaya et al., 2016).

The weight-length relationship (LWR) has been used in many fields for fish biology and fisheries management (Petrakis & Stergiou, 1995; Froese & Pauly, 2012) to calculate the production and biomass of a fish population (Giacalone et al., 2010). LWR is also useful in local and interregional, morphological, and life history comparisons of species and populations (Kara & Bayhan, 2008). The condition factor (CF) is also an effective parameter to assess the evolution of fish overweight status and to compare the general physiological state of the fish population during a seasonal cycle or basins with different ecological conditions (Lévéque, 2006). *a*, *b*, and CF values are valid parameters used to evaluate the dynamic characteristics and biomass of populations (Da Silva et al., 2020).

LWR and CF give information about the growth of the fish species. Therefore, they have great importance in fisheries evaluation studies (Jisr et al., 2018). The size of fish is representative of age, diet, and other physiological and environmental factors. Variability in size has important implications for various aspects of fisheries science and population dynamics (Erzini, 1994). In general, the fish's LWR is also useful for cross-regional comparisons of species' life history (Binohlan & Pauly, 1998; Stergiou & Moutopoulos, 2001).

Although there are many studies on the LWR and CF of different spiny eel species (e.g. *Macrognathus armatus*: Serajuddin, 2005; Narejo et al., 2003; Sarkar et al., 2013; Awas et al., 2020; Ponnuvel et al., 2022, *M. aculeatus*: Pathak & Mohd, 2015, *M. pancalus*: Pathak et al., 2013; Hussain, 2013; Abujam & Biswas, 2016; Sarkar et al., 2013, *M. siamensis* and *M. aral*: Ponnuvel et al., 2022) in many Asian countries. However, studies on *M. simack*, which is an endemic species for Tigris and Euphrates basins, are limited. Studies on the age structure and growth properties of *M. mastacembelus* in southern Iran (Pazira et al., 2005). Further, Oymak et al. (2009) reported preliminary information on LWR and the growth of *M. mastacembelus* from Türkiye. The age and growth of *M. mastacembelus*, from south-eastern Anatolia were studied by Gümuş et al. (2010). Then, Gerami et al. (2013) reported on LWR of *M. mastacembelus* from Cholvar River, western Iran, and some biological properties including LWR of *M. mastacembelus* were reported from the upper Euphrates River Basin in Türkiye by Çoban et al. (2021). Therefore, this study aimed to provide basic data and updated information about the LWR and condition factor for *M. simack* in two different water basins (Tigris and Murat rivers). Obtained results will contribute to the protection of natural *M. simack* stocks in these regions.

2. MATERIALS and METHODS

2.1. Sample collection

Two sampling sites were selected, located on two different rivers (Tigris and Murat rivers) in the same geographical region and characterized by different environmental conditions. The station in Tigris River Basin was selected in Bismil/Diyarbakır ($37^{\circ}50'02.94''N$, $40^{\circ}41'52.10''E$) and Murat River Basin was selected in Genç/Bingöl ($38^{\circ}49'20.42''N$, $40^{\circ}40'16.94''E$) from May 2014 to July 2016. 4 samplings from Murat River and 6 samplings from Tigris River Sampling were based on annual sampling. 6 samples were taken from the Tigris River (May and September 2014, 2015, and 2016) and 4 (December 2014, June and October 2015, and June 2016) from the Murat River. All fish samples were caught by gill net, bag net, and fish trap during the sampling period. Fish samples were transported to the laboratory and necessary measurements were made immediately.

2.2. Length-weight relationship (LWR) and Condition factor (CF)

The LWR of Mesopotamian spiny eel was analyzed by measuring the length and weight of fish specimens collected from the sampling area. The total length (TL) of each fish specimen was measured to a sensitivity of 0.1 cm. The total weight (TW) was taken using a digital balance with a

precision of 0.01 g. The statistical relationship between these parameters of the fish was established by using the equation of $TW=a \times TL^b$. In this equation; TW is the total weight of specimen (g), TL is the total length (cm), a is the intercept and b is the slope of the relationship (Bagenal & Tesch, 1978). In other words, TW = the total weight of fish (g), TL = the total length (cm), a = the coefficient related to body form, and b = an exponent indicating isometric growth expressing the relationship between length-weight.

Fulton's CF is used to reveal the condition of the length and weight of fish. It is based on the assumption that heavier fish of a given length are in better condition (Sheikh & Ahmed, 2018). Fulton's CF was calculated for all individuals by the following equation (Fulton, 1911):

$$CF = 100TW/TL^3$$

Preliminary statistics (mean, standard deviation, minimum and maximum values) were computed for TW, TL, and CF.

2.3. Statistical analysis

The relationships among the variables were identified using the regression analysis (Spearman Rank Correlation). The observed differences were evaluated statistically using STATISTICA software and t-test, independent, by groups. Statistical differences in *b* value were tested among the locations using a one-way analysis of variance (ANOVA) test with $p<0.05$.

3. RESULTS and DISCUSSION

The length-weight relationship of *M. simack* collected from Tigris and Murat rivers was analyzed in this study. 62 were collected from Tigris/Bismil, and 24 were collected from Murat/Genç of the 86 specimens,. The total length of Murat River ranged from 27.20-60.50 cm with a mean of 38.80 cm. The total length of Tigris River ranged from 24.00-67.40 cm with a mean of 42.00 cm. The total weight values of Murat and Tigris rivers ranged from 38.20-385.00 g (mean=123.99 g) and 31.70-585.30 g (mean=156.07), respectively (Table 1).

The calculated linear regression showed the differences between the slopes of the LWR in *M. simack* between the location of Tigris and Murat rivers. The significance of the LWR and CF of *M. simack* were tested among these locations using ANOVA, and the values for each location were tested by Fisher's LSD (Least Significant Difference) test to verify its significance level in length and weight.

The difference between the two locations was statistically insignificant in terms of total length ($p=0.15$) and weight ($p=0.18$) ($p>0.05$). The most dominant length group in Tigris Basin was between 31.00 and 40.90 cm with an average value of 37.90 cm ($n=25$). Every length group number in Murat Basin was equal with 8 samples and the total sample number was 24 (Table 1). Therefore, every length group was at the same dominant rate. Some studies reveal the LWR of individuals belonging to the Mesopotamian spiny eels (Table 2).

Table 1. Mean length-weight relationship parameters of *M. simack* in Tigris River and Murat River ($p<0.05$)

n	Mean TL \pm SD (cm)	L(cm) (Min-Max)	Mean TW \pm SD (g)	W (g) (Min-Max)	a	b	R ²	CF \pm SD	CF (Min-Max)	LWR	Growth (t-test)
Murat/Genç											
8	29.80 \pm 1.44	27.20-31.80	53.57 \pm 9.31	38.2-66.8	0.0003	3.54	0.94	0.20 \pm 0.10	0.19-0.22	$W=0.0003L^{3.54}$	A(+)
8	36.83 \pm 3.26	32.40-40.90	91.18 \pm 20.96	57.16-121.8	0.03	2.18	0.61	0.18 \pm 0.03	0.14-0.24	$W=0.03L^{2.18}$	A(-)
8	39.70 \pm 1.16	42.10-60.50	227.23 \pm 98.22	140.1-385.00	0.002	2.96	0.96	0.19 \pm 0.03	0.15 \pm 0.20	$W=0.002L^{2.96}$	I
24	38.80\pm9.45	27.20-60.50	123.99\pm96.33	38.20-385.00	0.005	2.75	0.97	0.19\pm0.03	0.14-0.27	$W=0.005L^{2.75}$	A(-)
Tigris/Bismil											
8	27.81 \pm 2.46	24.00-30.00	46.48 \pm 11.94	31.7-62.8	0.02	2.39	0.74	0.21 \pm 0.03	0.17-0.25	$W=0.0164L^{2.39}$	A(-)
25	37.90 \pm 2.64	31.00-40.90	105.51 \pm 22.12	65.2-152.4	0.06	2.06	0.49	0.19 \pm 0.03	0.14-0.27	$W=0.057L^{2.02}$	A(-)
24	47.39 \pm 3.54	41.20-52.80	201.89 \pm 51.93	118.50-282.2	0.0007	3.27	0.80	0.19 \pm 0.03	0.15-0.25	$W=0.0007L^{3.27}$	A(+)
5	59.28 \pm 5.62	53.70-67.40	364.26 \pm 167.83	217.00-585.30	0.0000001	4.77	0.97	0.17 \pm 0.03	0.14-0.21	$W=1E-06L^{4.77}$	A(+)
62	42.00\pm8.91	24.00-67.40	156.07\pm100.37	31.70-585.30	0.005	2.75	0.94	0.19\pm0.03	0.14-0.27	$W=0.005L^{2.75}$	A(-)

Çoban et al. (2021) identified that Mesopotamian spiny eel was in the 59-64 cm lengths and 13-1131 g weights group in Euphrates River, Türkiye. Wahab (2019) reported as 27-63 cm for lengths and 48-549 g weights in 62 individuals of *M. mastacembelus* in Iraq. Pazira et al. (2005) found the maximum total lengths for *M. mastacembelus* were 432 mm in Southern Iran. Oymak et al. (2009) indicated that total lengths and weights ranged from 7.0 to 85.0 cm and from 6 to 1100 g, respectively in Atatürk Dam Lake, South-eastern Türkiye. It was reported that it reached a length of 1 m and a weight of 1 kg in Iraq by Coad (2010). We found that there was no statistically significant difference between the locations in terms of both length ($p=0.15$, $p>0.005$) and weight ($p=0.18$, $p>0.05$).

LWR interprets the effect of different factors such as habitat type and feeding habits on fish growth (Agumassie, 2018). Ricker (1975) stated that the live weight of the fish is affected by different factors such as the season, stomach content, spawning status, etc. The paired sample Student t-test of was used to compare b to 3. The value of b is 3 when fish growth is unchanged ($b=3$), indicating isometric growth and is a good indicator of the type of growth (Wootton, 1990). When the b value is greater than 3 ($b>3$, $p<0.05$), it means that the weight of a fish increases as it grows in length, it shows positive allometric growth, and when it is less than 3 ($b<3$, $p>0.05$), its weight decreases as the body length increases, and when it looks 'slimer', it shows negative allometric growth (Richer, 1975; Yilmaz et al., 2012).

In this study, length groups were formed to determine which group of individuals showed the highest growth rate. Length groups were determined based on b "high b values". b values are different from 3 in both Murat (2.75) and Tigris rivers (2.73). The length-weight relation (LWR) of *M. simack* was $W=0.005L^{2.72}$ for Tigris/Bismil and $W=0.005L^{2.75}$ for Murat/Genç with negative allometry (Student's t-test; $p < 0.05$) (Table 4). Pazira et al. (2005) found that the growth of *M. mastacembelus* was negative allometric growth ($b=2.54$ males; $b=2.73$ females). Oymak et al. (2009) found $b<3$ for *M. mastacembelus* had negative allometry from Atatürk Dam Lake in Türkiye (Oymak et al., 2009). Gümüş et al. (2010) referred that b was 2.84 (negative allometry) for *M. mastacembelus* from Southern Türkiye. Similarly, b was 2.68 from Cholvar River in the Karun River, Iran (Gerami et al., 2014). In addition, when the values of different length groups were compared, it was determined that individuals with a length of between 27.20 and 31.80 cm showed positive allometry ($b=3.54$) in the Murat Basin. Individuals with a length of between 41.20 and 52.80 cm ($b=3.27$), and 53.70 and 67.40 cm ($b=4.77$) showed positive allometry in Tigris Basin. Negative allometry indicates that the fish species expend more energy on axial growth than biomass (Liu et al., 2016) and helps them escape predators and forage (Weitzman & Palmer, 2003). To appreciate the fish's well-being, b is compared to 3. If b is not significantly different from 3, the species shows a good adaptation to the dominant ecologic condition of the habitat. If it is not, there is less adaptation (Baijot et al., 1994).

The coefficient of determination (R^2) values explained the proper fit of the growth model (Datta et al., 2013). R^2 for *M. simack* was reported as 0.97 in Tigris River (Iran) by Esmaeili et al. (2014) and 0.98 in Atatürk Dam Lake (Turkey) by Gümüş et al. (2010). R^2 was 0.94 in Tigris Basin and 0.97 in Murat Basin (Figure 1, Table 1). Combined genders and the use of a small sample size may affect R^2 values (Esmaeili et al., 2014). It is assumed that males gain more weight as they grow taller, indicating better well-being. It was observed that the groups with the longest length-weight range had the highest R^2 value in both Murat and Tigris Basin samples. The highest R^2 value was between 38.60 and 40.90 cm in length, 140.1 and 385.00 g weight ranges ($R^2=0.96$) in Murat Basin. 53.70-67.40 cm length and 217.00-585.00 g weight ranges had the highest R^2 value ($R^2=0.97$) in Tigris Basin (Table 1).

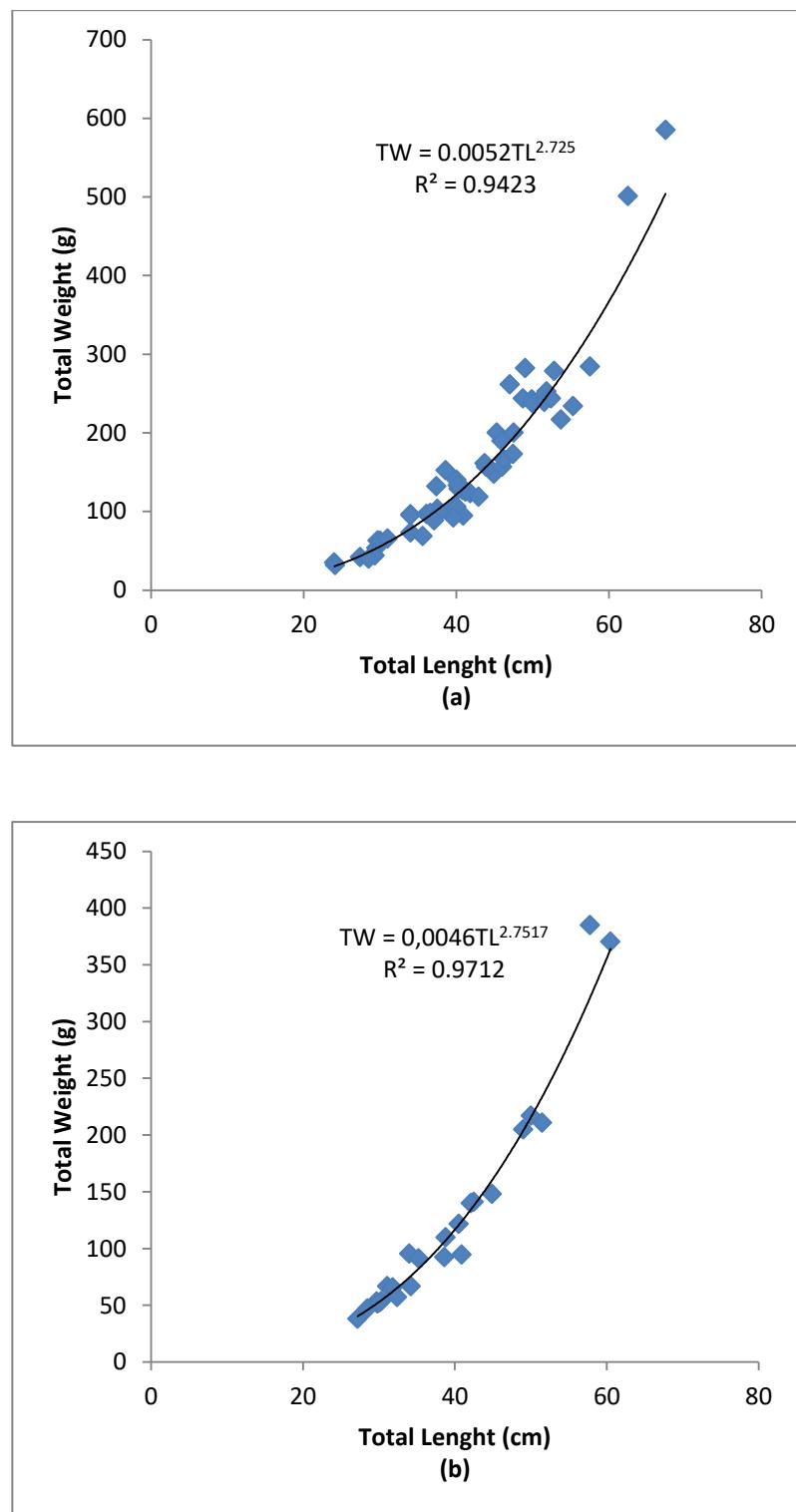


Figure 1. The total length-weight relationship of *M. simack* in Tigris/Bismil (a), Murat/Genç (b)

Table 2. Comparison of growth parameters of the spiny eels reported by different studies

Locations	Species	L (min-max)	W (min-max)	a	b	R ²	CF (min-max)	Authors
Helleh and Dalaky rivers, Iran	<i>M. mastacembelus</i>	0.42-43.20	2.6-201.90	-	-	-	0.16-0.46	Pazira et al., 2005
Atatürk Dam Lake, Euphrates River	<i>M. mastacembelus</i>	7.00-80.00	6.00-1100.00	-	-	-	-	Oymak et al., 2009
Atatürk Dam Lake, Euphrates River	<i>M. mastacembelus</i>	14.40-76.90	6.00-950.00	0.004	2.84	0.98	-	Gümüş et al., 2010
Cholvar River, Iran	<i>M. mastacembelus</i>	19.80-46.50	20.07-210.01	2E-05	2.68	0.97	-	Gerami et al., 2013
Keban Dam Lake, Euphrates River	<i>M. mastacembelus</i>	14.20-81.80	13.20-1131.10	0.006	2.73	0.97	0.14-0.49	Çoban et al., 2021
Mymensingh, Bangladesh	<i>M. armatus</i>	14.80-47.50	8.00-139.40	-	-	0.99	0.80-1.31	Narejo et al., 2003
Ganges River, India	<i>Macrognathus aculeatus</i>	1.13-1.31	-	-1.28	2.02	0.38	-	Pathak and Mohd, 2015
Godavari River, India	<i>Macrognathus aculeatus</i>	1.16-1.40	-	-3.16	3.53	0.88	-	Pathak and Mohd, 2015
Mahanadi River, India	<i>Macrognathus aculeatus</i>	1.24-1.44	-	-3.14	3.52	0.88	-	Pathak and Mohd, 2015
Gomti River, India	<i>Macrognathus panchalus</i>	10.10-18.50	-	-2.61	3.17	0.88	-	Pathak et al., 2013

While the CF was ranged from 0.14 to 0.27 (average 0.19) in Tigris Basin, the CF varied from 0.14 to 0.25 (average 0.19) in Murat Basin. When the mean values were examined, it was determined that both basins had an equal condition for Mesopotamian spiny eel and there was no statistical difference between the locations ($p=0.47$, $p>0.05$).

Total a, b, R^2 and CF of the Mesopotamian spiny eel had no significant difference in both Murat and Tigris basins. However, there were differences between the length groups for these parameters in both basins. It is known that LWR differs depending on many environmental factors such as different habitats, physicochemical properties of water, pollution status, amount of food in the environment, season, and reproduction in the same species. Therefore, there may be great differences between parameters related to the same species (Avşar, 2005). In this study, even if it is the same species, we can say that these differences between the length groups, even if it is the same species are due to the different environmental conditions of the two different river basins.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the Republic of Türkiye Ministry of Agriculture and Forestry, Elazığ Fisheries Research Institute staff who accompanied us throughout the fieldwork.

FUNDING

The study was partly financed by the Scientific Research Project Coordination Unit of Bingol University, Project Number: BA_35_235_2015.

CONFLICTS of INTEREST

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in the paper.

ETHICAL STATEMENT

All fish captures and tagging were conducted under Bingöl University Animal Experiments Local Ethics Committee Directive (2015/02).

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Data used in this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

REFERENCES

- Abujam, S. S., & Biswas, S. P. (2016). Length-Weight Relationship of Spiny eel *Macrognathus pannulus* (Hamilton-Buchanan) from upper Assam, India. *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 2(2), 50-60. <https://doi.org/10.3153/JAEFR16007>
- Anyanwu, P. E., Okoro, B. C., Anyanwu, A. O., Matanmi, M. A., Ebonwu, B. I., Ayaobu-Cookey, I. K., Hamzat, M. B., Ihimekpen, F., & Afolabi, S. E. (2007). Length-weight relationship, condition factor, and sex ratio of African mud catfish (*Clarias gariepinus*) reared in indoor water recirculation system tanks. *Research Journal of Biological Sciences*, 2(7), 780- 783.
- Awas, M., Ahmed, I., & Sheikh, Z. A. (2020). Length-weight relationship of six coldwater food fish species of River Poonch, Pir Panjal Himalaya, India. *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries*, 24(2), 353–359. <https://doi.org/10.21608/ejabf.2020.82230>
- Avşar, D. (2005). *Balıkçılık biyolojisi ve popülasyon dinamiği*, Nobel Kitapevi.
- Baijot, E., Moreau, J., Barry, I., & Bouda, S. (1994) Biologie et démographie des principaux espèces de poissons des retenues d'eau du Burkina Faso. In E. Baijot, J. Moreau, & S. Bouda (Eds.) Aspects hydrobiologiques et Piscicoles des retenues en Zones Soudano-sahélienne? (pp. 87- 122). CTA, Wageningen.
- Bagenal, T.B., & Tesch, F.W. (1978). Age and growth. In T.B. Bagenal (Ed.) *Methods for Assessment of Fish Production in Freshwaters*, (pp. 101-136). Blackwell Science Publication, Oxford.
- Coad, B. W. (1996). Zoogeography of the fishes of the Tigris-Euphrates Basin. *Zoology in the Middle East*, 13, 51–70. <https://doi.org/10.1080/09397140.1996.10637706>
- Coad, B. W. (2006, Nov 20). Freshwater Fishes of Iran. <http://www.briancoad.com>
- Coad, B. W. (2010). *Freshwater Fishes of Iraq*. Pen soft Publishers.

- Çoban, M. Z., Eroğlu, M., & Düşükcan, M. (2021). Some biological properties of spiny eel (*Mastacembelus mastacembelus*, Banks & Solander, 1794) living in the Upper Euphrates River Basin, Turkey. *Scientific Reports*, 11(1), 11761. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91223-1>
- Dağlı, M. & Erdemli, A. Ü. (2009). An investigation on the fish fauna of Balıksuyu Stream (Kilis, Turkey). *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 3(1), 19–24.
- Da Silva, R. S., Virgilio, L. R., Corrêa, F., & Vieira, L. J. S. (2020). Length-weight relationships of fish species from oxbow lakes on the floodplain of the middle Purus River in western Brazilian Amazon. *Journal of Applied Ichthyology*, 36, 256-258. <https://doi.org/10.1111/jai.14013>
- Datta, S. N., Kaur, V. I., Dhawan, A. & Jassal, G. (2013). Estimation of length-weight relationship and condition factor of spotted snakehead *Channa punctata* (Bloch) under different feeding regimes. *Springer Plus*, 2, 436. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-436>
- Esmaeili, H. R., Gholamifard, A., Vatandoust, S., Sayyadzadeh, G., Zare, R., & Babaei, S. (2014). Length-weight relationships for 37 freshwater fish species of Iran. *Journal of Applied Ichthyology*, 30, 1073–1076. <https://doi.org/10.1111/jai.12433>
- Erzini, K. (1994). An empirical study of variability in length-at-age in marine fishes. *Journal of Applied Ichthyology*, 10(1), 17–41. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1994.tb00140.x>
- Froese, R., & Pauly D. (2023). *FishBase database*. World Wide Web electronic Publication, USA.
- Fulton, T. W. (1911). *The sovereignty of the sea: an historical account of the claims of England to the dominion of the British seas and of the evolution of the territorial waters, with special reference to the rights of fishing and the naval salute*. William Blackwood and Sons.
- Geldiay, R. & Balık, S. (2009). *Türkiye Tatlısu Balıkları*, VI. Baskı. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Yayınları (in Turkish).
- Gerami, M. H., Arpanahi, D. A., Patimar, R., & Abdolhahi, M. (2013). Length-weight relationship of two fish species from Cholvar River, western Iran: *Mastacembelus mastacembelus* (Banks & Solander, 1794) and *Glyptothorax silviae* Coad, 1981. *Journal of Applied Ichthyology*, 30(1), 214-215. <https://doi.org/10.1111/jai.12352>
- Hussain, M. A. (2013). Length-weight relationship, condition factor, and sex-ratio of the spiny eel, *Mastacembelus pancalus* (Hamilton). *University Journal of Zoology, Rajshahi University*, 32, 85-88.
- Giacalone, V. M., D'Anna, G., Badalamenti, F., & Pipitone, C. (2010). Weight-length relationships and condition factor trends for thirty-eight fish species in trawled and untrawled areas off the coast of northern Sicily (central Mediterranean Sea). *Journal of Applied Ichthyology*, 26(6), 954-957. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01491.x>
- Gupta, S., & Banerjee, S. (2012). Indigenous ornamental fish: a new boon in ornamental fish trade of West Bengal. *Fishing Chimes*, 32(1), 130-134.
- Gümüş, A., Şahinöz, E., Dogu, Z., & Polat, N. (2010). Age and growth of the Mesopotamian spiny eel, *Mastacembelus mastacembelus* (Banks & Solender, 1794), from south-eastern Anatolia. *Turkish Journal of Zoology*, 34(3), 399-407. <https://doi.org/10.3906/zoo-0809-8>
- Jalali, B., Barzegar, M. & Nezamabadi, H. (2008). Parasitic fauna of the spiny eel, *Mastacembelus mastacembelus* Banks et Solander (Teleostei: Mastacembelidae) in Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 9(2), 158–161.
- Jisr, N., Younes, G., Sukhn, C., & El-Dakdouki, M. H. (2018). Length-weight relationships and relative condition factor of fish inhabiting the marine area of the Eastern Mediterranean city, Tripoli-Lebanon the Egyptian Journal of Aquatic Research, 44(4), 299-305. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2018.11.004>
- Kalaycı, G., & Durmaz, R. (2022). Population Structure and Molecular Phylogeny of Mesopotamian Spiny Eel (*Mastacembelus mastacembelus*) (Teleostei: Synbranchiformes) in Turkey. *Recep Tayyip Erdogan University Journal of Science and Engineering*, 3(1) 34-39. <https://doi.org/10.53501/rteufemud.1124666>
- Kara, C., Güneş, H., Gürlek, M. E. & Alp, A. (2014). Distribution and Some Morphometrical Properties of Mesopotamian Spiny Eel, *Mastacembelus mastacembelus* (Banks & Solander 1794) in Adiyaman Region Streams, Turkey, *Aquaculture studies*, 14(3), 3–11 (in Turkish).
- Kara, A., & Bayhan, B. (2008). Length-weight and length-length relationships of the bogue *Boops*

- boops* (Linneaus, 1758) in Izmir Bay (Aegean Sea of Turkey). *Belgian Journal of Zoology*, 138(2), 154-157.
- Kaya, C., Turan, D., & Ünlü, E. (2016). The latest status and distribution of fishes in upper Tigris River and two new records for Turkish freshwaters. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(3), 545-562.
- Kottelat, M. (2022). *Mastacembelus simack*, the valid name of the Mesopotamian spiny eel (Teleostei: Mastacembelidae). *Zootaxa*, 5162(4), 446-450. <https://doi.org/10.11646/ZOOTAXA.5162.4.9>
- Koyun, M., Gül, B., & Korkut, N. (2018). The fish fauna of Göynük Stream (Bingöl). *Commagene Journal of Biology*, 2(1), 39-47. <https://doi.org/10.31594/commagene.403367>
- Koyun, M., & Celik, S. (2020). Investigation on Some Ectoparasites of Mesopotamian Spiny Eels (*Mastacembelus mastacembelus*) with Certain Data Mining Algorithms Based on the Effect of Weight and Sex. *Pakistan Journal of Zoology*, 52(2), 733. <https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20190221110209>
- Lévéque, C. (2006). Growth and Ontogeny. In Lévéque, C. & D. Paugy (pp: 177-190), *Fishes from African Mainland Waters: Diversity, Ecology*, IRD Editions.
- Liu, H. P., Ye, S. W., & Li, Z. J. (2016). Length-weight relationships of three schizothoracinae fish species from the Niyang River, a branch of the Yarlung Zangbo River, Tibet, China. *Journal of Applied Ichthyology*, 32, 982–985.
- Narejo, N. T., Rahmatullah, S. M., & Rashid, M. M., (2003). Length-weight relationship and relative condition factor (Kn) of a freshwater spiny eel, *Mastacembelus armatus* (Lacepede) from Mymensingh, Bangladesh. *Indian Journal of Fisheries*, 50(1), 81-87.
- Nelson, J. S., (1994). *Fishes of the world (3rd Edition)*. John Wiley & Sons.
- Oymak, S. A., Kirankaya, S. G., & Dogan, N. (2009). Growth and reproduction of Mesopotamian spiny eel (*Mastacembelus mastacembelus* Banks & Solander, 1794) in Ataturk Dam Lake (Sanliurfa), Turkey. *Journal of Applied Ichthyology*, 25(4), 488- 490. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2009.01234.x>
- Pathak, B. C., Zahid, M., & Serajuddin, M. (2013). Length-weight, Length-length relationship of the spiny eel, *Macrognathus pancalus* (Hamilton, 1822) sampled from Ganges and Brahmaputra River basins, India. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 12(1), 170–182.
- Pathak, B. C., & Mohd, S. (2015). A Comparative Study of Length-Weight Relationship and Condition Factor of Lesser Spiny Eel, *Macrognathus aculeatus* (Bloach) from the Different River Basins of India. *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 7(2), 82–86. <https://doi.org/10.5829/idosi.wjfps.2015.7.2.92110>
- Pazira, A., Abdoli, A., Kouhgardi, E., & Yousefifard, P. (2005). Age structure and growth of the Mesopotamian spiny eel, *Mastacembelus mastacembelus* (Banks & Solander in Russell, 1974) (Mastacembelidae), in southern Iran. *Zoology in the Middle East*, 35(1), 43-47.
- Petrakis, G., & Stergiou, K.I. (1995). Weight-length relationships for 33 fish species in Greek waters. *Fisheries Research*, 21(3-4), 465-469. [https://doi.org/10.1016/0165-7836\(94\)00294-7](https://doi.org/10.1016/0165-7836(94)00294-7)
- Ponnuvel, M., Kaliyamoorthy, K., Narayanasamy, R., & Ashiq, U. R. M. (2022). Length-weight relationship and Condition factor of three freshwater eel fish species from Khan Sahib River, Tamil Nadu, India. *Research Square*, PPR543169. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2016470/v1>
- Ricker, W.E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 191, 1-382.
- Sarkar, U. K., Khan, G. E., Dabas, A., Pathak, A. K., Mir, J. I., Rebello, S. C., Pal, A., & Singh, S. P. (2013). Length-weight relationship and condition factor of selected freshwater fish species found in River Ganga, Gomti, and Rapti, India. *Journal of Environmental Biology*, 34(5), 951-956.
- Serajudin, M. (2005). Length-weight relationship of freshwater spiny eel, *Mastacembellus armatus* (Lacepede) from Aligarh region, Uttar Pradesh, India. *Proceeding of the National Academy of Science Section A*, 75(1), 13-18.
- Sheikh, Z. A., & Ahmed, I. (2018). *Journal of Ecophysiology and Occupational Health*, 18(3&4), 66-72. <https://doi.org/10.18311/jeoh/2018/v18i3&4/19991>
- Stergiou, K., & Moutopoulos, D. K. (2001). A review of length-weight relationships of fishes from

- Greek marine waters. *NAGA*, 24, 23–39.
- Vreven, E. J. & Teugels, G. G. (2005). Redescription of *Mastacembelus liberiensis* Baulenger, 1898 and description of a new West African spiny eel (Synbranchiformes: Mastacembelidae) from the Konkoure River basin, Guinea. *Journal of Fish Biology*, 67, 332–369.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00729.x>
- Weitzman, S. H., & Palmer, L. (2003). Family Gasteropelecidae. In R. E. Peis, S. O. Kullander & C. Ferraris Jr (Eds.), *Checklist of the freshwater fishes of South and Central America Edipucrs* (pp. 101–103). Edipucrs.
- Wootton, R. J. (1990). *Ecology of Teleost Fishes. Fish and Fisheries Series 1*. Chapman & Hall.

Diyetsel Gümüş Nanopartikülün Gökkuşağı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) Yetiştiricilik Parametreleri ve Yüksek Sıcaklık Toleransına Etkisi

Effect of Diet Silver Nanoparticle on Cultivation Parameters and High Temperature Tolerance of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Özgür Uçaş¹, Ece Evliyaoglu¹, Hüseyin Sevgili², Esin Akarsu³, Siti Nur Insyirah Noor Izam¹, Hatice Asuman Yılmaz¹, Orhan Tufan Eroldoğan^{1,4,*}

¹Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Adana, Türkiye

²Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Isparta, Türkiye

³Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Antalya, Türkiye

⁴Çukurova Üniversitesi, Biyoteknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi, Adana, Türkiye

*Sorumlu Yazar: mtufan@cu.edu.tr

Received: 30.10.2022

Accepted: 24.05.2023

Published: 01.09.2023

How to Cite: Uçaş, Ö., Evliyaoglu, E., Sevgili, H., Akarsu, E., Noor Izam, S. N., Yılmaz, H. A., & Eroldoğan, E. T. (2023). Diyetsel gümüş nanopartikülün Gökkuşağı Alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) yetiştiricilik parametreleri ve yüksek sıcaklık toleransına etkisi. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 246-256. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1210907>

Özet: Son yıllarda balık yemlerinde kullanılan balık unlarının yerine bitkisel protein kaynaklarının kullanılması ile birlikte balıklar için esansiyel olan mikro elementlerin yem içerisindeki miktarları da oransal olarak azalmıştır. Bu sebeple, kritik seviyelerde kullanılması gereken bu mikro besinlerin nanopartikül formlarının, özellikle soğuk su balıklarında kullanımının araştırılması önem arz etmektedir. Bu çalışmada yemlere ilave edilen gümüş nanopartikülün (Nano-Ag) gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) büyümeye, yem alımı, tüm vücut besinsel kompozisyonu ile kritik termal maksima değeri üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Denemede 3 farklı dozda (0, 0,2 ve 2 mg/kg) Nano-Ag içeren yem hazırlanmıştır ve başlangıç ağırlıkları $41,5 \pm 0,31$ g olan balıklar bu yemler ile 60 gün süresince günde iki defa olacak şekilde beslenmiştir. Deneme sonunda, alabalıkların final ağırlıkları 118,9 ve 112,9 g arasında değişmiş, gruplar arasında istatistikî önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$). Aynı şekilde, canlı ağırlık kazancı, yem tüketimi, yemden yararlanma oranı, visero-somatik indeks ve hepatosomatik indeks açısından da gruplar arasında istatistikî olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$). Gruplar arasında tüm vücut ham protein içeriği %16,1-16,3 arasında değişirken lipit içeriği %11,4-12,2 arasında değişim göstermiştir ($P>0,05$). Deneme sonunda gerçekleştirilen kritik termal maksima (CTMax) denemesinde yemlere ilave edilen Nano-Ag'ın önemde düzeye istatistikî bir etkisinin olmadığı gözlenmesine karşın ($P>0,05$), yüksek Nano-Ag'ın termal toleransı kısmen de olsa artırdığı gözlenmiştir. Kontrol, 0,2 mg/kg ve 2 mg/kg grubu bireylerinin ortalama CTMax değerleri sırasıyla $27,0^{\circ}\text{C}$, $27,2^{\circ}\text{C}$ ve $27,8^{\circ}\text{C}$ olarak belirlenmiştir. 2 mg/kg Nano-Ag'ın CTMax'ı %3 artırıldığı gözlenmiştir. Bu çalışma ile yemlere ilave edilen Nano-Ag'ın gökkuşağı alabalıklarında büyümeye performans verilerine ve yem alımına etkisinin olmadığı ancak kısmen de olsa CTMax değerini artırma eğiliminde olduğu ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler

- Nanopartikül gümüş
- Termal tolerans
- Yem katkı maddeleri
- Yem alımı

Abstract: In recent years, with the use of plant protein sources instead of fish meals in fish feeds, the amounts of dietary essential microelements have decreased proportionally. For this reason, it is important to investigate the use of nanoparticle forms of these micronutrients, which should be used at critical levels, especially in cold-water fish. In this study, the effects of silver nanoparticles (Nan- Ag) added to feeds on growth, feed intake, whole-body nutritional composition, and critical thermal maximum value of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were investigated. A feed containing Nano-Ag at three different doses (0, 0,2, and 2 mg/kg) was prepared for the trial, and fish with initial weights of 41 g were fed twice daily with these feeds for 60 days. At the end of the experiment, the final weights of the trout ranged between 118.9 and 112.9 g, without a statistically significant difference between the groups ($P>0,05$). Similarly, there was no statistically significant difference between the groups in terms of body weight gain, feed consumption, feed conversion ratio, viscerosomatic index, and hepatosomatic index

Anahtar kelimeler

- Nanoparticle silver
- Thermal tolerance
- Feed additives
- Feed intake



($P>0.05$). Whole body crude protein content varied between 16.1-16.3%, while lipid content varied between 11.4-12.2% between the groups ($P>0.05$). The critical thermal maxima (CTMax) trial carried out at the end of the trial exhibited that Nano-Ag added to feeds did not have a significant statistical effect ($P>0.05$) although it was observed that high Nano-Ag partially increased thermal tolerance. The mean CTMax values of individuals in the 0 (control), 0.2, and 2 mg/kg groups were found to be 27.0°C, 27.2°C, and 27.8°C. In the present study, it was revealed that Nano-Ag added to the feeds did not affect the growth performance data and feed intake of 41 g rainbow trout but partially increased the CTMax value.

1. GİRİŞ

Su ürünleri yetiştirciliği yoluyla yapılan üretim dünya çapında toplam balık üretiminin yaklaşık %44'ünü teşkil etmekte olup, 2030 yılına kadar bu payın küresel üretimin %60'ın üzerine çıkacağı tahmin edilmektedir. (Cottrell vd., 2020; FAO, 2020). Yetiştircilik endüstrisinde en önemli konuların başında yemler ve yemlerin besinsel içerikleri gelmektedir (Halves, 2002; Austin vd., 2022). Son yıllarda yapılan araştırmalarda göstermiştir ki yemlerde artan orandaki bitkisel yem hammaddeleri kullanımının canlılığın gereksinim duyduğu mineralleri ve iz elementleri yeterli düzeylerde karşılayamadığı bu da balıklarda ciddi bağılıklık sorunlarına neden olmaktadır (Prabhu vd., 2019; Wischunes vd., 2020, Figueiredo-Silva, 2020). Mikro besinler esansiyel olan (çinko, demir, bakır) ve esansiyel olmayan (civa ve gümüş gibi) iz elementleri kapsamakta (Shaw & Handy, 2011) ancak esansiyel olmayanlarda mineral karmalarında kullanılmaktadır (NRC, 2011). Balıklarda iz elementlerin (demir, çinko, bakır, gümüş vb.) canlılar üzerindeki fizyolojik etkileri ile ilgili bilgiler oldukça eskije dayanmaktadır. İz elementlerin özellikle balığın optimum (en uygun) konfor alanından çıktıığı ve çevresel strese maruz kaldığı ortamlarda fonksiyonları daha önemli hale gelmektedir (Kamunde & Wood, 2004; Shaw & Handy, 2011). İz elementlerden olan gümüş ve bakır gibi birçok metal nanopartiküllerin balıkların bağılıklık potansiyellerinin artırılmasında, hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde başarılı sonuçların alındığı rapor edilmektedir (Márquez vd., 2018; Nasr-Eldahan vd., 2021; Ogunfowora vd., 2021; Aly vd., 2023). Hedefe yönelik çalışmalarında nanopartiküller, inhibitör bileşiklerin uygulanmasına yönelik yeni yöntemleri kolaylaştırabilir. Bu yöntemler, geleneksel yaklaşımlardan daha hızlı, müdahaleci olmayan ve daha uygun maliyetli olabilir (Fajardo vd., 2022). Günümüzde su ürünleri yetiştirciliğinde değerlendirilen nanopartiküller sadece hastalıklar üzerine değil aynı zamanda pek çok türü kompozit formlar halinde (polilaktidkoglikolit, aljinat, bağılıklık uyarıcı kompleksler, kitosan, çeşitli metaller, karbon nanotüppler, lipozomlar ve virozomlar) yetiştirciliğin çoğu aşamasında kullanılmaktadır (Taffala vd., 2013; Vinay vd., 2019).

Nano-gümüş (Nano-Ag) karasal hayvanlar ve su ürünlerini yetiştirciliğinde dezenfektan ve terapötik materyal olarak kullanılmaktadır (Nia, 2009). Diyetsel Nano-Ag kullanımı çok az çalışılmış bir konudur. Mevcut araştırmalardan Aly vd. (2023) Nil tilapiası (*Oreochromis niloticus*) yemlerine 1 mg/kg düzeyinde Nano-Ag ilavesinin büyümeye ve yemden yararlanmayı etkilemese de bağılıklık parametreleri ve hastalık direncini önemli derecede artırdığını rapor etmişlerdir. Diğer nanopartiküllerden, nano-selenyumun yemlere eklenmesinin balıklarda büyümeye performansı ve antioksidan savunma sisteminde önemli bir iyileşme sağladığı bildirilmiştir (Shah ve Mraz, 2020). Gökkuşağı alabalıklarında, yem katılan kitosan-aljinatin *Lactococcus garvieae* ve *Streptococcus iniae* bakterilerinin neden olduğu laktkokoz ve streptokokokoza karşı etkili olduğu belirlenmiştir (Fajardo vd., 2022; Austin vd., 2022).

Doğal şartlarda balıklar, vücut ısısını çevresel sıcaklık değişikliklerine göre dengeleyebilirler ya da dengelemek amacıyla optimum su sıcaklığının olduğu bölgelere göç edebilirler (Cossins vd., 2006; Eissa & Wang, 2016). Su ürünlerini yetiştirciliği koşulları dikkate alındığında, özellikle balıklarda ilkbahardan yaza ve/veya sonbahardan kışa geçi dönemlerinde su sıcaklıklarının yetiştirilen tür için optimumun üstündeki veya altında etkilerinin bilinmesi önemlidir. Axenov-Gribanov vd. (2016) optimum üzerindeki su sıcaklığı değişimlerinin balıklarda termal stresi tetiklediği ve balığın yem alımını ve büyümeye performansını düşürdüğünü bildirmiştir. Balıkların yanı sıra diğer sucul canlıların da termal toleransı, sıcaklık stresine karşı dirençlerinin belirlenmesinde hayatı bir kriterdir. Bazı çalışmalar termal toleransın oksijen tutma kapasitesini artıran mikro elementler ile artırabileceğini gösterirken, genel görüş oksijen tutma kapasitesinin balıklarda termal toleransı artırmadığı yönündedir (Brijs vd., 2015). Ancak, sucul canlıların artan su sıcaklığı karşısında nasıl adapte oldukları, nasıl

yaşamlarını devam ettirdikleri ve sıcaklığa karşı nasıl direndiklerini araştırmak bilim insanların önemle üzerinde durdukları konularında başında gelmiştir (Kumar vd., 2018). İklim değişikliğinin beraberinde gelen beklenmedik su sıcaklığı dalgalanmaları da doğal popülasyonlarda ciddi kayıplara sebep olmaktadır. Bu kayıplar, yükleme, nakliye, yemler ve esas olarak kültür koşullarında yüksek sıcaklıklara maruz kalma gibi pek çok stres faktörlerine bağlıdır (Kumar vd., 2018; Galappaththi vd., 2020). Sucul canlıların alt ve üst sıcaklık toleranslarının belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntem, kritik termal metodoloji (CTM) olarak bilinmektedir. Bu yöntem, ilk olarak Cowles ve Bogert (1944) tarafından ve tanımlanmış ve daha sonra Cox (1974), Spotila vd. (1979), Lutterschmidt & Hutchison (1997), Beitingen vd. (2000) gibi çeşitli araştırmacılar tarafından geliştirilerek balıklar ve diğer sucul hayvanlar üzerinde uygulanmıştır. CTM verileri, balıkların ekstrem sıcaklıklara toleransları hakkında kesin bilgiler vermek yerine göreceli bilgiler sunarak türler arasında karşılaştırma yapılmasını sağlar. CTMin ve CTMax verileri kullanılarak hesaplanan termal tolerans poligonu, balıkların yaşayabileceği sıcaklık aralığının genişliği hakkında bilgi verir (Bennet & Beitingen, 1997). Bu parametreler, sucul canlıların sıcaklık toleransı hakkında önemli bilgiler sağlayarak, çevresel faktörlerin sucul ekosistemler üzerindeki etkilerinin anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Balık yetiştirciliği açısından, yemlere eklenen alternatif yem kaynakları veya iz elementlerin balık türlerinin sıcaklık toleranslarına etkileri hakkında bilgi ihtiyacı söz konusudur (Olsvik vd., 2016; Kumar vd., 2017a; Kumar vd., 2017b; Kumar vd., 2018).

Bu çalışmasının amacı, gökkuşağı alabalığı yemlerine farklı dozlarda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) yeme ilave edilen Nano-Ag partiküllerinin büyümeye ve yemden yararlanma performansı ile besin madde bileşenlerine olan etkilerini araştırmaktır. Ayrıca, deneme sonunda alabalıkların termal toleransının kritik termal tolerans (CTMax) verileri ölçülerek Nano-Ag'ün su sıcaklık değişimlerine etkisi ilk defa incelenmiş olacaktır.

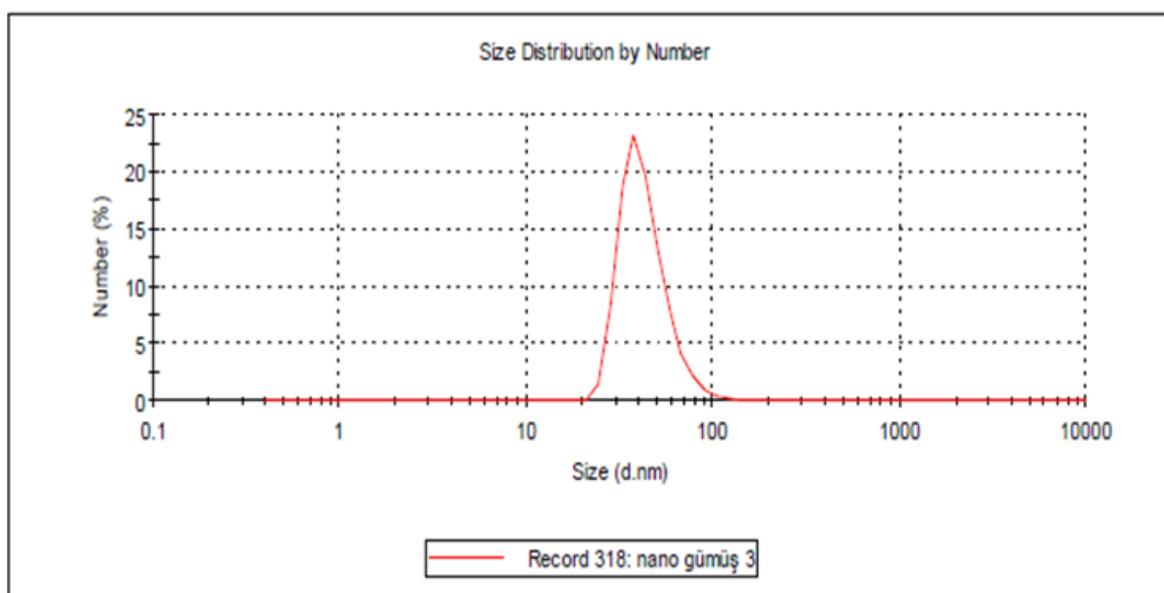
2. MATERİYAL VE METOT

2.1. Deneme materyali ve Dizaynı

Çalışma, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ünitesinde gerçekleştirılmıştır. Denemedede kullanılan gökkuşağı alabalığı özel bir alabalık tesisinden (Kahramanmaraş) alınarak deneme ünitesine getirilmiştir. Balıklar deneme sisteminde bulunan tanklara (190 L) ve deneme koşullarına alışmaları için 2 hafta boyunca günde 2 kez doyana kadar kontrol yemi ile beslenmişler ve yaklaşık 40 g ağırlığa kadar büyütülmüşlerdir. Deneme boyunca tanklardan deşarj edilen su partikül filtrasyonuna tabi tutulmuş ve çözünmüş oksijen seviyesi 7-8 mg/L'nin altına düşmeyecek şekilde sürekli olarak bir hava motoru ile havalandırılmıştır.

Tüm deneme grupları 3 tekerrürlü olacak şekilde tesadüf parselleri deneme desenine göre planlanmış ve her bir deneme tankına 30 balık stoklanmıştır. Denemedede balık büyüklüklerine göre 2-3 mm'lik alabalık yemleri (Ham protein: %45, ham yağ: %20, ham selüloz: %3, su: %10, kül: %10) (Gümüşdoğa Yem A.Ş., Muğla) kullanılmıştır. Denemedede 3 farklı dozda (0, 0.2 ve 2 mg/kg) Nano-Ag olacak şekilde deneme yemleri hazırlanmıştır. Nano-Ag deiyonize su ile bir sprey yardımıyla peletlerin üzerine sıkılarak kaplanmıştır. Kontrol grubu yemi ise sadece deiyonize su ile muamele edilmiştir. Tüm yemler 50 °C'de bir gece kurutulmuştur. Denemenin ilk aşamasında 2 mm daha sonra ise 3 mm'lik alabalık yemleri kullanılmıştır. Balıkların beslenmesi 60 gün boyunca günde iki kez saat 09:30 ve 16:30'da doyana kadar gerçekleştirilmiştir. Yemlemeden bir saat sonra tüketilmeyen yemler sifonlanarak sabit ağırlığa kadar 70°C'de kurutularak yem tüketimleri her tank için günlük olarak kaydedilmiştir. Deneme sonunda balıkların bireysel ağırlıkları alınmıştır. Tartım işlemlerinde balıkların strese girmelerini engellemek amacıyla 0.3 ml/L dozunda 2-phenoxyethanol (Sigma, St. Loise, MO, USA) kullanılmıştır.

Denemedede kullanılan Nano-Ag, NANOEN (Antalya, Türkiye) firması tarafından üretilmiş su bazlı yapıdadır. Bileşik yüksek oranda anti-mikrobiyal etki gösteren bir çözelti olup, zararlı olarak kabul edilen hiçbir uçucu organik bileşik, peroksit çeşitli antibiyotik türevleri, triklosan, paraben, benzalkanyum klorür gibi kimyasallar da içermemektedir. Firma tarafından sağlanan Nano-Ag solüsyonuna ait partikül dağılımı (36 mm) Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Denemede kullanılan Nano-Ag'nın partikül büyülüğü.

Deneme başlangıcı ve sonunda tüm balıkların ağırlıkları bireysel olarak alınmıştır. Balıkların büyümeye performansı, yem alımları ve vücut indeksleri ile ilgili veriler aşağıdaki formüller ile hesaplanmıştır.

Spesifik Büyüme Oranı (SBO, % / gün) = $100 \times [(\ln(\text{ağırlık}_{final}) - (\ln(\text{ağırlık}_{başlangıç})) / \text{gün})]$;

Ağırlık Kazancı (%) = $100 \times [(\text{ağırlık final} - \text{ağırlık başlangıç}) / \text{ağırlık başlangıç}]$;

Günlük Ağırlık Kazancı = $(\text{ağırlık final} - \text{ağırlık başlangıç}) / \text{gün}$;

Yem Çevirim Oranı (FCR) = $(\text{Verilen yem miktarı (g)} / \text{ağırlık kazancı (g)})$

Günlük yem alımı (g/balık) = tank başına tüketilen yem / balık sayısı

2.2. Kimyasal analizler

Deneme sonunda her tanktan 3 adet balık, toplamda her bir deneme grubu için 9 balık tüm vücut kompozisyonları belirlenmek üzere örneklenmiştir. Homojenize hale getirilen örnekler analize kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir. Örneklerin besin madde bileşenleri analizleri (nem, ham protein (HP), ham yağ (HY) ve ham kül (HK) standart metoda (AOAC, 1990) göre yapılmıştır.

2.3. CTMax Çalışması

CTMax çalışması için, 60 günlük deneme ve örneklemelerin ardından geriye kalan balıklar ait oldukları tanklara tekrar yerleştirilmiştir. Balıklar test yemleri ile bir hafta daha beslenmeye devam edilmiştir. Bu sürenin ardından CTMax ölçümleri için bir gün aç bırakıldıktan sonra her deneme tankından rastgele 3 adet balık ($N=9$) anestezi uygulaması yapılmadan, üç yüzeyi siyah film ile kaplı bir akvaryuma (20 x 30 x 40 cm) yerleştirilmiştir. Akvaryum deneme tanklarından alınan 15 °C'de tatlı su ile doldurulmuştur. Akvaryum üç hava taşı yardımcı ile sürekli havalandırılmış ve ölçüm esnasında oksijen seviyesi ve su sıcaklığı sürekli olarak YSI (Yellow Spring Instrument Co., Yellow Spring, Ohio, Amerika) marka bir oksijen-metre ile anlık kontrol edilmiştir. Kritik Termal Metodoloji (CTM) yöntemi Cowles ve Bogert, 1944'göre gerçekleştirilmiştir. Test süresince sıcaklığın artışı Becker ve Genewoy (1979) tarafından önerildiği gibi $0,3^{\circ}\text{C}/\text{d}$ olacak şekilde yapılmıştır. Su sıcaklığı, balığın motor aktivitesi ve koordinasyonunu yitirdiği, sonuçta denge kaybinin oluştuğu ana kadar artırılmıştır (CTMax). Denge kaybı için, balıkların bir dakikadan fazla dorsoventral oryantasyonu sürdürmemesi esas alınmıştır (Bennett & Beitingen, 1997). Her sıcaklık artış aşamasında (başlangıcta) kronometre ile süre takibi başlatılmış ve sıcak su akvaryuma homojen şekilde bir piset yardımıyla dağıtılmıştır. CTMax deneyi boyunca, balıkların sıcaklık değişimine karşı gösterdikleri hareketlilik, denge kaybı, salgı üretimi ve dışkılama gibi tepkiler dikkatlice gözlemlenerek kaydedilmiştir. Balıkların bireysel olarak kaydedilen CTMax değerlerinin aritmetik ortalaması, grupların CTM değeri olarak not edilmiştir.

2.4. İstatistik analizler

Gruplar arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi ile $P<0,05$ önem düzeyinde test edilmiştir. Deneme sonunda yemlere ilave edilen Nano-Ag ve balık ağırlıkları arasındaki iki yönlü ilişkinin kritik termal maksima (CTMax) üzerine olan etkisi general linear model ile iki yönlü varyans analizi ile test edilmiştir. Önemli farkların bulunduğu durumlarda, ortalamalar Duncan (n sayıları eşit olduğu durumlarda) ya da Scheffe's (n sayıları eşit olmadığı durumlarda) çoklu karşılaştırma testleri ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma (ort. \pm S.S.) şeklinde verilmiştir. Deneme sonunda elde edilen bütün veriler SPSS 15 (SPSS, Chicago, IL, Amerika) istatistik paket programında analiz edilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. Çevresel Parametreler

Deneme kapalı devre bir sistemde yürütülmüş olup su kalite kriterleri gökkuşağı alabılığının optimum büyümeyi sağlayacak aralıklarda tutulmuştur. Sistemde su sıcaklığı, oksijen, amonyak, nitrit ve nitrat seviyelerinde herhangi olumsuz bir değişim gerçekleşmemiştir. Deneme süresince su sıcaklığı ortalama olarak $14,2 \pm 0,1^\circ\text{C}$ olarak kaydedilmiştir. Düzenli olarak ölçülen çözünmüş oksijen seviyesi ise deneme süresince ortalama $10,1 \pm 0,7 \text{ mg/L}$ olarak tespit edilmiştir.

3.2. Büyüme Performansı ve Yem Alımı

Altmış günlük deneme sonunda gruplar arasındaki yaşama oranı %98-100 arasında değişmiştir ($P>0,05$). Deneme sonunda ortalama ağırlıkları gruplara göre istatistik açıdan farklılık bulunmamış, kontrol, 0,2 ve 2 mg/kg Nano-Ag yemlerinde sırasıyla $115,6 \pm 2,89$ (kontrol), $118,94 \pm 5,81$ (0,2 mg/kg) ve $112,96 \pm 5,40$ (2 mg/kg) olarak kayıt edilmiştir ($P>0,05$) (Tablo 1). Kontrol ve 0,2 mg/kg grubu bireylerinin final ağırlıkları 2 mg/kg grubu bireylerine göre sırasıyla %2,30 ve %5,98 daha fazla ortalama canlı ağırlık değerlerine ulaşmışlardır. Deneme gruplarındaki spesifik büyümeye oranı %1,67-1,75 arasından değişim göstermiş ancak istatistik bir farklılık bulunmamıştır ($P>0,05$). Deneme yemlerinin balıkların yem tüketimlerine olan etkileri de istatistik olarak önemli düzeyde farklılık göstermemiştir ($P>0,05$). FCR verileri 0,98-1,04 arasında değişim gösterirken, her ne kadar istatistik olarak bir farklılık çıkmamıştır (Tablo 1). Büyüme verileri de dikkate alındığında, bu yem içerisindeki en yüksek gümüş nanopartikül konsantrasyonlarının balığın gelişimine etki yaratmadığı değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Altmış gün süresince deneme yemleri ile beslenen alabalıkların büyümeye performans verileri ile yem alımı ve vücut indeks verileri

	Deneme Grupları		
	Kontrol	0,2 mg/kg	2 mg/kg
Başlangıç ağırlığı (g)	$41,7 \pm 0,43$	$41,4 \pm 0,27$	$41,5 \pm 0,24$
Final ağırlık (g)	$115,6 \pm 2,89$	$118,9 \pm 5,81$	$113,0 \pm 5,40$
Ağırlık kazancı (%)	$177,2 \pm 5,00$	$186,8 \pm 12,15$	$172,2 \pm 14,53$
Günlük ağırlık kazancı (g)	$1,2 \pm 0,04$	$1,3 \pm 0,09$	$1,2 \pm 0,09$
SBO (% /gün)	$1,7 \pm 0,03$	$1,8 \pm 0,07$	$1,7 \pm 0,09$
FCR	$1,03 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,06$	$1,04 \pm 0,15$
Yem tüketimi (g/balık)	$76,2 \pm 1,25$	$76,3 \pm 2,22$	$74,7 \pm 2,32$
VSI (%)	$10,6 \pm 0,65$	$10,6 \pm 0,50$	$10,1 \pm 0,87$
HSI (%)	$1,00 \pm 0,13$	$0,96 \pm 0,08$	$1,00 \pm 0,03$
VYI (%)	$2,39 \pm 0,50$	$2,54 \pm 0,33$	$2,84 \pm 0,60$

Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında fark görülmemiştir ($P>0,05$).

SBO: Spesifik Büyüme Oranı

FCR: Yem Tüketim Oranı

VSI: Visero somatik indeks

HSI: Hepato somatik indeks

VYI: Visero yağ indeksi

Balıklarda hesaplanan visero somatik indeks (VSI) verileri 10,13-10,58 (%) arasında değişirken istatistik açıdan gruplar arasında farklılık çıkmamıştır ($P>0,05$). Hepato somatik indeks (HSI) ve

visero yağ indeks (VYI) verilerinde de benzer şekilde gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$).

3.3. Tüm Vücut Besin Madde Bileşenleri

Farklı dozlarda Nano-Ag ilaveli yemler ile beslenen alabalık bireylerinde deneme sonunda elde edilen besinsel kompozisyon verileri incelendiğinde, 0, 0.2 ve 2 mg/kg gruplarında analiz edilen ham protein verileri sırasıyla %16,3, 16,1 ve 16,2 arasında değişmiş ve istatistik olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$). Tüm vücut lipit değerleri %11,4-12,2 arasında değişim göstermiştir ve istatistik olarak önemli bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$) (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı dozlarda Nano-Ag ilave edilmiş yemlerle beslenen alabalıkların tüm vücut besin kompozisyonu seviyeleri

	Nano-Ag seviyeleri		
	Kontrol	0.2 mg/kg	2 mg/kg
Ham protein	16,3±0,29	16,1±0,42	16,2±0,81
Lipit	12,2±1,09	11,4±1,25	12,0±0,26
Kuru Madde	28,2±4,15	28,0±4,24	28,3±3,43
Kül	2,6±0,50	2,8±0,70	3,5±0,56

*Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında fark görürmemiştir ($P>0.05$).

3.4. Kritik Termal Maksima (CTmax)

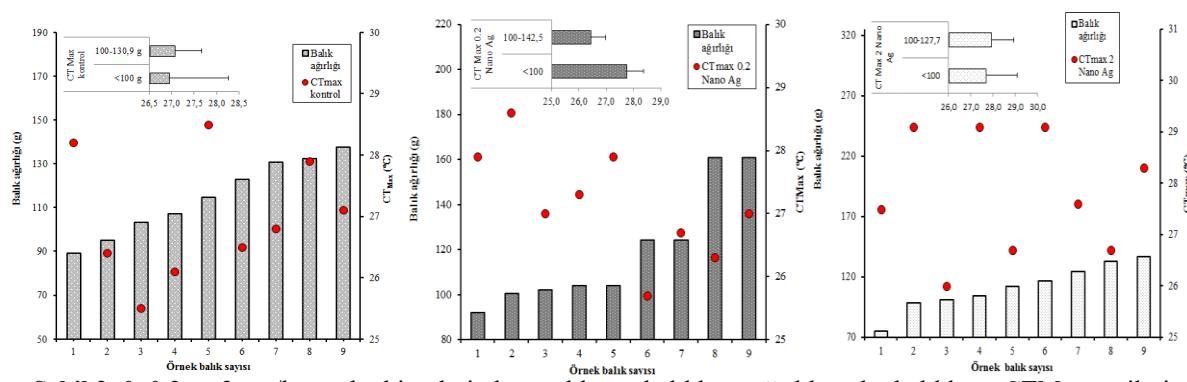
Deneme sonunda gerçekleştirilen kritik termal maksima (CTMax) denemesinde yemlere ilave edilen Nano-Ag'nın önemli düzeyde istatistik bir etkisinin olmadığı gözlenmesine karşın, yüksek Nano-Ag'nın termal toleransı kısmen de olsa rakamsal olarak arttığı gözlenmiştir. Tablo 3'te görüleceği gibi kontrol, 0.2 mg/kg ve 2 mg/kg grubu bireylerinin ortalama CTMax değerleri 27.0°C, 27.2°C ve 27.8°C. Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında bir farklılık bulunmamıştır ($P>0.05$).

Tablo 3. Deneme sonunda ölçülen Kritik termal maksima (CTMax, °C) değerleri

	Nano-Ag seviyeleri		
	Kontrol	0.2 mg/kg	2 mg/kg
CTMax (°C)	27,0±0,85	27,2 ±0,70	27,8 ±0,25

*Tek yönlü varyans analizine göre gruplar arasında fark görürmemiştir ($P>0.05$).

Deneme sonunda CTMax ölçümleri için Nano-Ag ve balık büyülüğünün bir etkisinin olup olmadığı iki yönlü varyan analizi ile test edilmiştir. Buna göre, balık ağırlığı ve Nano-Ag'nın CTMax üzerine bir etkisi bulunmamıştır ($P>0.05$). Ancak, bireysel veriler detaylı şekilde incelendiğinde Nano-Ag'nın termal tolerans üzerine bir etkisinin olabileceği ortaya çıkmıştır. Detaylandırmak gerekirse, tüm grupların ortalama CTMax değeri 27.3°C'dir ve kontrol grubu ve 0.2 mg/kg gruplarında örneklenen sadece 4 balık bu ortalamanın üzerinde bir CTMax değeri gösterirken, 2 mg/kg grubunda 6 balık ortalama CTMax değeri 27.3°C'nin üzerinde bir değer göstermiştir. Bu veriler doğrultusunda, her bir gruptan örneklenen toplam 9 balığın ortalama ağırlıkları <100 g altı ve 100> şeklinde gruplandığında, balıkların CTMax değeri yatay bir bar grafik üzerinde gösterilmiştir. Şekil 2'de verilen yatay bar grafikte görüleceği gibi kontrol grubundan örneklenen ve ortalama ağırlıkları <100 g altı balıkların CTMax değerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Kontrol grubunda örneklenen bu küçük balıkların (<100 g) sıcaklık toleransının 100-142,5 g'lik balıklara göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil 2. 0, 0.2 ve 2 mg/kg grubu bireylerinde örneklenen balıkların ağırlık ve bu balıkların CTMax verileri arasındaki ilişki.

4. TARTIŞMA

Deneme sonunda elde edilen büyümeye performans verileri değerlendirildiğinde, yemlere ilave edilen farklı dozlardaki Nano-Ag'nin gökkuşağı alabalıklarında ağırlık kazancı, spesifik büyümeye oranına üzerine bir etkisi bulunmamıştır. Benzer şekilde, Galvez vd. (2001) 0,05 µg/g (kontrol yemi) ve 3,1 µg/g (deneme yemi) gümüş içeren yemlerle 128 gün beslenen gökkuşağı alabalıklarında büyümeye performansı ve yem almısında belirgin bir etkinin olmadığını bildirmiştirlerdir. Paralel olarak, 1 mg/kg dozunda Nano-Ag ilave yemlerle 60 gün boyunca beslenen Nil tilapialarında büyümeye ve yemden yararlanma bakımından herhangi bir fark tespit edilmemiştir (Aly vd., 2023). Çalışmamızda deneme süresince akut bir balık ölüm vakası gerçekleşmemiştir. Bu veri bize yemlere ilave edilen Nano-Ag dozlarının toksik bir etki yaratmadığını göstermektedir. Diğer taraftan, zebra balığı ile yapılan çalışmada farklı konsantrasyonları (5, 10, 25, 50 ve 100 uygulanan µg/ml) Nano-Ag'nin embriyonik gelişimde toksik etkisinin olduğuna dair bulgular bazı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Asharani vd., 2008). Benzer şekilde, Yeo ve Kang (2008) Nano-Ag'ye maruz kalan zebra balıklarında embriyo gelişiminde yaşanan problemlerden dolayı yumurtaların açılma oranının düşüğünü tespit etmişlerdir. Farklı türlerde yapılan toksisite çalışmalarında kullanılan metal iyonları ve benzeri sentetik (veya organik) partüküllerin yüksek doz seviyeleri toksit etki yarattığı bildirilmektedir (Asharani vd., 2008). FCR 0,98 ile 1,04 arasında değişirken, balık başına düşen yem tüketimi deneme süresince ortalama 74-76 gr/balık olacak şekilde değişim göstermiştir. Galvez vd. (2001) gökkuşağı alabalıklarının yemlerine ilave edilen gümüşün FCR'ı istatistik olarak etkilemediğini ve balıkların iştahının yemlerden kaynaklı bir olumsuzluğa neden olmadığını vurgulamışlardır. Deneme sonunda alınan karaciğer ve içorgan indeks verileri incelendiğinde, Nano-Ag'nin bu veriler üzerine de bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Ancak, yemde artan Nano-Ag ile iç organlarda yağlanması kısmende olsa artışı (%2,5) gözlenmiştir. He vd. (2017) bir mikroalg türü olan *Scenedesmus obliquus*'un gelişimi ve lipit depolamasına yönelik yapıtları çalışmada demir oksit (Fe_2O_3) ve magnezyum oksit (MgO) nanopartiküllerin lipojenik aktiviteyi artırdığını bulmuşlardır. Laboratuvar farelerinde yapıtları çalışmada, Yue vd. (2019) Nano-Ag'nin obeziteyi artırdığını ve 2 mg/kg Nano-Ag'nın intraperitoneal kasa enjeksiyonu sonucunda lipit birikiminin önemli düzeyde arttığını bulmuşlardır. Aynı araştırmacılar, bunun sebebinin aşırı Nano-Ag'nın reaktif oksijen türü (ROS) seviyelerini artırarak mitokontriyal işlevleri bozduğunu, böylece adipoz doku oluşumunda ve tüm vücut enerji dengesini etkilediğini ileri sürmüştür. Selenyum (Se)'un Ag üzerinde yüksek bir afinitesi olduğu, bu iki elementin toksik etkilerinin birbirlerini etkileyebileceğinin rapor edilmektedir (Lall, 2022). Nano-Ag'nın tüm vücut protein ve lipit içeriklerine istatistik bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Balıklarda tüm vücut yapısının önemli bileşenleri olan protein ve lipit içerikleri sırasıyla %16,1-%16,3 ve %11,4-%12,2'dir. Yukarıdaki bölümlerde de ele alındığı gibi yemlere ilave edilen Nano-Ag'nın tüm vücut protein miktarına bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Ancak, Nano-Ag özellikle bakterilerin protein hücre membranlarına Ag⁺ formunda tutunduğu ve bakterinin hücre yapısının bozulmasına ve sonuçta ölümüne yol açtığı bildirilmiştir (Lara vd., 2010; Huang vd., 2011). Ancak, bu konularda denememizde kullanılan oranlarda veya daha yüksek oranlarda Nano-Ag kullanımının protein birikimine etkisi üzerine daha fazla çalışmanın yapılması gerektiği

görmektedir.

Çalışmanın ikinci ve önemli amacı olan Nano-Ag'nin gökkuşağı alabalıklarının kritik termal maksima değerine CTMax olan etkisidir. Her ne kadar tek yönlü varyans analizi Nano-Ag'nin CTMax üzerine istatistik bir etkisi görünmese de artan Nano-Ag'nin CTMax değerlerini kısmen de (%3) olsa artırdığı gözlenmiştir. Özellikle sucul canlıların ölümçül su sıcaklığı koşullarında antioksidan enzimlerin devreye girmesiyle, vücuttaki serbest radikaller ile protein ve karbonhidratları metabolize eden enzimler artar (Kumar vd., 2017c). Bu durumda canlinin oksijen ihtiyacı artacaktır. Nano-Ag canlinin vücut içerisindeki mevcut kullanılabılır oksijeninin taşıyıcısı rolü oynamaktadır (Kumar vd., 2018). Su sıcaklığının artığı sub-optimal koşullarda Nano-Ag'nin bu yeteneğini kullanarak serbest oksijeni vücutta ihtiyaç duyulan bölgeye taşıması ve böylece serbest radikallerin seviyesini azaltması beklenebilir. Çalışmamızda, Nano-Ag 2 mg/kg grubu bireyleri 27.8°C kadar yükseltilen su sıcaklığına kadar dayanabilmişlerdir. Deneme sonunda örneklenen balıkların ortalama ağırlıkları aynı olmasına karşın, CTMax çalışmasında örneklenen balıkların ağırlıkları ve bu balıkların CTMax verileri incelendiğinde, Nano-Ag 2 mg/kg grubunda örneklenen balıkların (N=9) 6 adedinin CTMax'nin 27.6°C'ın üzerinde olduğu görülmüştür. Aynı değerlendirmeye kontrol grubu bireylerinde yapıldığında sadece 4 balığın 27.0°C'in üzerinde bir CTMax gösterdiği gözlenmiştir. Ancak, bunun üzerine yapılan iki yönlü varyan analizi ile örneklenen balık büyülüğu ile CTMax bir ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir. Bilindiği üzere, balıklarda ısı değişimi vücut boyutu ve ağırlığı ile ilişkilidir (Elliott, 1981). Yani balık büyülüğu ile CTMax arasındaki ilişki, küçük balıkların balık yüzey alanına oranında büyük balıklara göre daha yüksek olduğu bu yüzden de büyük balıklara göre su sıcaklığından daha fazla etkilendiği bildirilmiştir (Recsetar vd., 2012). Bazı yetişiricilik bölgelerinde gökkuşağı alabalığı yaz periyodunda geçici sürelerde yüksek (>26-27°C) su sıcaklıklarına maruz kalabilirken (Ineno vd., 2020), bu türün termal toleransının 24°C olduğu bildirilmiştir (Ineno vd., 2005). Yukarıda belirtilen çalışmaların CTMax üzerine alınan farklı sonuçlar denemelerin fotoperiyotları (Elliott, 1981; Healy & Schulte, 2012; Ineno vd., 2020) veya balık büyülükleri ve türlerine göre değişiklik göstermektedir (Ineno vd., 2019; Ineno vd., 2020). Diğer taraftan, canlinin sıcaklık toleransı yemlere eklenen katkı maddeleriyle de artırılabilemektedir (Tejpal vd., 2014; Kumar vd., 2014; 2017). Kumar vd. (2018) 0,5 mg/kg Nano-Ag'nin tropik bir tür olan *Channa striatus* CTMax toleransını artırdığını gözlemlemiştir. Bu tez çalışmasında Nano-Ag ve CTMax arasındaki ilişkiyi gökkuşağı alabalıklarında ilk defa ortaya koymuştur. Ancak, ilerleyen dönemlerde özellikle farklı dozlarda Nano-Ag, Se (mineral, organik ve nano formlarının) ve farklı boyutlarda gökkuşağı alabalıklarının CTMax verisi üzerine araştırmaların yapılması gerektiği ortaya çıkmıştır.

5. SONUÇ

Sonuç olarak, büyümeye verileri dikkate alınmadan eğer balıkların sıcaklık toleransını artırılması isteniyorsa, >40 g gökkuşağı alabalığında özellikle yaz mevsimlerinde ve su geçişlerinin olduğu dönemlerde Nano-Ag içeren yemlerin kullanılması önerilebilir. Ancak, bu konuda daha fazla örnek sayısıyla daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir. Nano-Ag'nin toksik olmayan daha yüksek dozlarda gökkuşağı alabalık yemlerinde kullanılması ve balıkların gelişim, lipit birikimleri ve beslenme masrafi ile ilgili moleküller düzeyde analizlerin gerçekleştirilmesi Nano-Ag'nin etkisini daha net ortaya çıkartacaktır.

TEŞEKKÜR

Yazarlar, denemede kullanılan yemin temini tarafımıza ücretsiz yapan Gümüşdoğa Yem Firmasına (Muğla) ve Gümüş Nanopartikülü ücretsiz şekilde gönderen Antalya NANOEN A.Ş'ne (Antalya, Türkiye) teşekkür etmektedir.

FİNANS KAYNAĞI

Bu çalışma yüksek lisans tezinden üretilmiş ve FYL-2020-12538 proje numarası ile Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

ÇIKARÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu çalışmayı etkileyebilecek finansal çıkarlar veya kişisel ilişkiler olmadığını beyan

etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Çalışma kurgusu ve Metodoloji: OTE, HS; Materyal temini: OTE, EA, HS; Deneyin gerçekleştirilmesi: ÖÜ, EE, SNINI; Veri analizi: ÖÜ, EE, HS, HAY, OTE; Makale yazımı: OTE, HS, HAY, ÖÜ; Denetleme: OTE. Tüm yazarlar nihai taslağı onaylamıştır.

ETİK ONAY BEYANI

Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin (SABİDAM) 07.10.2022 tarihli, 7 nolu toplantıda onayı doğrultusunda yürütülmüştür.

VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Bu çalışmada kullanılan veriler makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

KAYNAKLAR

- AOAC (Association of Official Analytical Chemists, & Association of Official Agricultural Chemists) (US). (1925). Official methods of analysis.
- Al-Sagheer, A. A., Mahmoud, H. K., Reda, F. M., Mahgoub, S. A., & Ayyat, M. S. (2018). Supplementation of diets for *Oreochromis niloticus* with essential oil extracts from lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and geranium (*Pelargonium graveolens*) and effects on growth, intestinal microbiota, antioxidant and immune activities. *Aquaculture nutrition*, 24(3), 1006-1014. <https://doi.org/10.1111/anu.12637>
- Aly, S.M., Eissa, A.E., Abdel-Razek, N., El-Ramlawy, A.O., 2023. The antibacterial activity and immunomodulatory effect of naturally synthesized chitosan and silver nanoparticles against Pseudomonas fluorescence infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): An in vivo study. *Fish & Shellfish Immunology*, 135, 108628. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108628>
- Asharani, P. V., Wu, Y. L., Gong, Z., & Valiyaveettill, S. (2008). Toxicity of silver nanoparticles in zebrafish models. *Nanotechnology*, 19(25), 255102. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/19/25/255102>
- Austin, B., Lawrence A.L., Can., E., Carboni, C., Crockett, J., Demirtaş Erol, N., Dias Schleider, D., Jatobá, A., Kayış, Ş., Karacalar, U., Kizak, V., Kop, A., Thompson, K., Mendez Ruiz, C. A., Serdar, O., Seyhaneyildiz Can, S., Watts, S. & Yücel Gier, G. (2022). Selected topics in sustainable aquaculture research: Current and future focus. *Sustainable Aquatic Research*, 1(2), 74-122. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7032804>
- Beitinger, T.L., Bennett, W.A. & McCauley, R.W. (2000). Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental biology of fishes*, 58(3), 237- 275. <https://doi.org/10.1023/A:1007676325825>
- Bennett, W.A. & Beitinger, T.L. (1997). Temperature Tolerance of the Sheepshead Minnow, *Cyprinodon variegatus*. *Copeia*, 77-87. <https://doi.org/10.2307/1447842>
- Cottrell, R. S., Blanchard, J. L., Halpern, B. S., Metian, M., & Froehlich, H. E. (2020). Global adoption of novel aquaculture feeds could substantially reduce forage fish demand by 2030. *Nature Food*, 1(5), 301-308. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0078-x>
- Cowles, R.B. & Bogert, C.M. (1944). A preliminary study of the thermal requirements a desert reptiles. *Iguana*, 83, 265-296.
- Cox, D.K. (1974). Effects of three heating rates on the critical thermal maximum of bluegill. *Thermal ecology*, 158-163.
- Elliott, J. M. (1981). Some aspects of thermal stress on fresh-water teleosts. *Stress and fish.*, 209-245.
- Fajardo, C., Martinez-Rodriguez, G., Blasco, J., Mancera, J.M., Thomas, B. & De Donato, M. (2022). Nanotechnology in aquaculture: Applications, perspectives and regulatory challenges. *Aquaculture and Fisheries*, 7(2), 185-200. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.12.006>
- FAO (2020). The State of World Fisheries and Aquaculture (p. 200). Rome, Italy
- Galvez, F., Hogstrand, C., McGeer, J. C., & Wood, C. M. (2001). The physiological effects of a biologically incorporated silver diet on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic*

- toxicology*, 55(1-2), 95-112. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00155-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00155-2)
- Halves, J. E., (2002). *The vitamins. Fish Nutrition*. Academic press.
- He, M., Yan, Y., Pei, F., Wu, M., Gebreluel, T., Zou, S., & Wang, C. (2017). Improvement on lipid production by *Scenedesmus obliquus* triggered by low dose exposure to nanoparticles. *Scientific reports*, 7(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15667-0>
- Healy, T. M., & Schulte, P. M. (2012). Thermal acclimation is not necessary to maintain a wide thermal breadth of aerobic scope in the common killifish (*Fundulus heteroclitus*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 85(2), 107-119. <https://doi.org/10.1086/664584>
- Huang, C. M., Chen, C. H., Pornpattananangkul, D., Zhang, L., Chan, M., Hsieh, M. F., & Zhang, L. (2011). Eradication of drug resistant *Staphylococcus aureus* by liposomal oleic acids. *Biomaterials*, 32(1), 214-221. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.08.076>
- Ineno, T., Tsuchida, S., Kanda, M., & Watabe, S. (2005). Thermal tolerance of a rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* strain selected by high-temperature breeding. *Fisheries Science*, 71(4), 767-775. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2005.01026.x>
- Ineno, T., Yamada, K., Tamaki, K., Kodama, R., Tan, E., Kinoshita, S., & Watabe, S. (2020). Determination of thermal tolerance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* based on effective time, and its reproducibility for a large number of fish. *Fisheries science*, 86(5), 767-774. <https://doi.org/10.1007/s12562-020-01447-9>
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Gupta, S. K., & Singh, N. P. (2017a). Selenium nanoparticles enhanced thermal tolerance and maintain cellular stress protection of *Pangasius hypophthalmus* reared under lead and high temperature. *Respiratory physiology & neurobiology*, 246, 107-116.
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Gupta, S. K., & Singh, N. P. (2017b). Cellular stress and histopathological tools used as biomarkers in *Oreochromis mossambicus* for assessing metal contamination. *Environmental toxicology and pharmacology*, 49, 137-147.
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Kumar, P., & Singh, N. P. (2017c). Zinc nanoparticles potentiates thermal tolerance and cellular stress protection of *Pangasius hypophthalmus* reared under multiple stressors. *Journal of Thermal Biology*, 70, 61-68. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2017.10.003>
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Chandan, N. K., & Singh, N. P. (2018). Dietary zinc potentiates thermal tolerance and cellular stress protection of *Pangasius hypophthalmus* reared under lead and thermal stress. *Aquaculture Research*, 49(2), 1105-1115.
- Kumar, N., Krishnani, K. K., Kumar, P., Sharma, R., Baitha, R., Singh, D. K., & Singh, N. P. (2018). Dietary nano-silver: Does support or discourage thermal tolerance and biochemical status in air-breathing fish reared under multiple stressors? *Journal of thermal biology*, 77, 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.08.011>
- Lall, S. P. (2002). The minerals. In Halver, J. E., Hardy, R.W. (Eds.) *Fish Nutrition, 3rd edition* (pp. 259–308). Academic Press San Diego.
- Lutterschmidt, W.I. & Hutchison, V.H. (1997). The critical thermal maximum: history and critique. *Canadian Journal of Zoology*, 75(10), 1561-1574. <https://doi.org/10.1139/z97-783>
- Márquez, J.C.M., Partida, A.H., del Carmen, M., Dosta, M., Mejía, J.C. & Martínez, J.A.B., 2018. Silver nanoparticles applications (AgNPs) in aquaculture. *International Journal of Fisheries Aquatic Studies*, 6, 5-11.
- Merrifield, D.L., Shaw, B.J., Harper, G.M., Saoud, I.P., Davies, S.J., Handy, R.D. & Henry, T.B., 2013. Ingestion of metal-nanoparticle contaminated food disrupts endogenous microbiota in zebrafish (*Danio rerio*). *Environmental Pollution*, 174, 157-163. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.11.017>
- Nasr-Eldahan, S., Nabil-Adam, A., Shreadah, M.A., Maher, A.M. & El-Sayed Ali, T., 2021. A review article on nanotechnology in aquaculture sustainability as a novel tool in fish disease control. *Aquaculture International*, 29, 1459-1480. <https://doi.org/10.1007/s10499-021-00677-7>
- Nia, Jafar Rahman, 2009. Using of Nanosilver in Poultry, Livestock and Aquatics Industry: Google Patents.
- NRC, N.R.C., 2011. Nutrient requirements of fish and shrimp. National academies press.
- Ogunfowora, L.A., Iwuozor, K.O., Ighalo, J.O. & Igwegbe, C.A., 2021. Trends in the treatment of

- aquaculture effluents using nanotechnology. *Cleaner Materials*, 2, 100024. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2021.100024>
- Olsvik P. A., Søfteland L., Hevrøy E. M., Rasinger J. D. & Waagbø, R. (2016). Fish pre-acclimation temperature only modestly affects cadmium toxicity in Atlantic salmon hepatocytes. *Journal of Thermal Biology*, 57, 21-34. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.02.003>. Epub 2016 Feb 27. PMID: 27033036.
- Lara, H. H., Ayala-Núñez, N. V., Ixtepan Turrent, L. D. C., & Rodríguez Padilla, C. (2010). Bactericidal effect of silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(4), 615-621. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0211-3>
- Recsetar, M. S., Zeigler, M. P., Ward, D. L., Bonar, S. A., & Caldwell, C. A. (2012). Relationship between fish size and upper thermal tolerance. *Transactions of the American Fisheries Society*, 141(6), 1433-1438. <https://doi.org/10.1080/00028487.2012.694830>
- Shah, B. R., & Mraz, J. (2020). Advances in nanotechnology for sustainable aquaculture and fisheries. *Reviews in Aquaculture*, 12(2), 925-942.
- Spotila, J.R., Terpin, K.M., Koons, R.R. & Bonati, R.L. (1979). Temperature requirements of fishes from eastern Lake Erie and the upper Niagara River: a review of the literature. *Environmental Biology of Fishes*, 4(3), 281-307. <https://doi.org/10.1007/BF00005485>
- Tafalla, C., Bøgwald, J. & Dalmo, R. A. (2013). Adjuvants and immunostimulants in fish vaccines: current knowledge and future perspectives. *Fish & Shellfish Immunology*, 35(6), 1740-1750. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.02.029>
- Vinay, T. N., Ray, A. K., Avunje, S., Thangaraj, S. K., Krishnappa, H., Viswanathan, B., & Patil, P. K. (2019). Vibrio harveyi biofilm as immunostimulant candidate for high-health pacific white shrimp, *Penaeus vannamei* farming. *Fish & shellfish immunology*, 95, 498-505.
- Yeo, M. K., & Kang, M. S. (2008). Effects of nanometer sized silver materials on biological toxicity during zebrafish embryogenesis. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 29(6), 1179-1184. <https://doi.org/10.5012/bkcs.2008.29.6.1179>
- Yue, L., Zhao, W., Wang, D., Meng, M., Zheng, Y., Li, Y., Qui., J., Yu, J., Yan Y., Sun, Y., Fu J., Wang, J., Zhang Q., Xu L., Ma, X. (2019). Silver nanoparticles inhibit beige fat function and promote adiposity. *Molecular metabolism*, 22, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.01.005>

Keban Baraj Gölü Sportif Olta Balıkçılığı Alabalık Turnuvası Değerlendirmesi: Av kompozisyonu ve Verimi

Assessment of Amateur Trout Angling Tournament in Keban Dam Lake: Catch Composition and Yield

Tuncay Ateşşahin^{1,*}, Mehmet Cilbiz²

¹Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elâzığ, Türkiye

²Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta, Türkiye

*Sorumlu Yazar: tatessahin@firat.edu.tr

Received: 30.10.2022

Accepted: 23.02.2023

Published: 01.09.2023

How to Cite: Ateşşahin, T., & Cilbiz, M. (2023). Keban Baraj Gölü sportif olta balıkçılığı alabalık turnuvası değerlendirme: Av kompozisyonu ve verimi. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 257-265. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1212438>

Özet: Bu çalışmada, hedef türün alabalık olduğu ve 238 amatör balıkçının katılımı ile 26-27.03.2022 tarihleri arasında, Keban Baraj Gölü'nde gerçekleştirilmiş olan bir sportif olta balıkçılığı turnuvasında yakalanmış olan balıkların av kompozisyonu (I), katılımcıların birim çabaya düşen av miktarlarını (II), uygulanan avcılık tekniğini (III), kullanılan iğnelerin balık vücudunda tutunduğu anatomik bölgelere (IV) ve iğnelerin çıkarılma süreleri ile kanamaya yol açıp açmadığını (V) belirlemek amacıyla yapılmıştır. Alabalık için ilan edilen yasal asgari av boyu olan 25 cm'in minimum av boyu olarak uygulandığı turnuvada, 25,4 – 49,2 cm total boy ve 180,2 – 2100,5 g total ağırlık aralığında 24 adet alabalık yakalanmıştır. Avın %37,5'inin avlandığı rapala en verimli olta türü iken, %33,4 ile kaşık, %20,8 ile spinner ve %8,3 ile jig izlemiştir. Kullanılan olta tiplerine göre av miktarları arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır ($X^2=4,39$, $p>0,05$). Yakalanan balıkların ortalama boy ve ağırlık değerleri kullanılan olta tiplerine göre farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). İğnelerin balık vücuduna en yüksek oranda alt çeneden (%66,7) tutunduğu tespit edilmiştir. İgne tipi ile balık vücuduna tutunma noktası arasında istatistiksel farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). İğnelerin çıkarılması sürecinde avın %83,3'ünde kanama gözlemlenmemiştir, kanamaya en yüksek oranda (%75) rapala tipi olta sebep olmuştur. Olta balıkçısı başına saatlik av verimi adet olarak 0,007 (CPUE), ağırlık olarak ta 5,1 g (YPUE) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak ülkemizde yapılan amatör olta balıkçılığı turnuvalarından elde edilecek veriler, sürdürülebilir balıkçılık ve stok yönetimi açısından ihtiyaç duyulan bazı verilerin eksikliğinin giderilmesi bakımından önemli olacaktır.

Abstract: In this study, the catch composition of the fish caught in a sportive angling tournament held in Keban Dam Lake on 26-27.03.2022 with the participation of 238 amateur fishermen and the target species was Rainbow Trout, the catch composition of the fish (I), the amount of catch per unit effort (II), which fishing technique applied (III), the anatomical status of the fish (IV), the times of removal from the hooks and whether they cause bleeding (V). Twenty-four O. mykiss were caught in the tournament, where the legal minimum catch length was 25 cm, with a total length of 25.4 - 49.2 cm and a total weight of 180.2 - 2100.5 g. While 37.5% of the fish caught was Rapala, it was followed by spoon with 33.3%, spinner with 20.8%, and jig with 8.3%. There was no statistical difference between the number of catches according to the fishing hook models used ($X^2=4.39$, $p>0.05$). The average length and weight values of the caught fish did not differ according to the fishing hook models ($p>0.05$). It was determined that the hooks were from the highest lower jaw (66.7%) according to the anatomical status of the trout. There was no statistical difference between the hook type and the anatomical status of the fish according to the catch status ($p>0.05$). Bleeding was not observed in 83.3% of the catch during the removal of the hooks, and the highest rate (75%) was caused by the Rapala hook type. The catch per unit effort for the angler was determined as 0.007 (CPUE) and 5.1 g (YPUE) by weight. As a result, the data to be obtained from the amateur angling tournaments held in our country will be important in terms of eliminating the lack of some data needed in terms of sustainable fishing and stock management.

Keywords

- CPUE
- YPUE
- Olta Balıkçılığı Turnuvası
- *Oncorhynchus mykiss*

Anahtar kelimeler

- CPUE
- YPUE
- Angling Tournament
- *Oncorhynchus mykiss*



1. GİRİŞ

Türkiye'de ticari ve amatör balıkçılığın yasal çerçevesi 1380 Sayılı Su Ürünleri Kanunu, Su Ürünleri Yönetmeliği hem amatör hem de ticari amaçlı su ürünleri avcılığını düzenleyen tebliğlerle ile belirlenmiştir. Amatör Amaçlı Su Ürünleri Avcılığının Düzenlenmesi Hakkındaki 5/2 Numaralı Tebliğ'e göre sportif balıkçılık, "*Sportif balık avcılığı federasyonlarında kurallara dayalı, yakalanan balığa zarar vermeme, sağlıklı ve canlı olarak suya iade edilmesi gibi temel prensipler içeren bireysel ya da takımlar arasındaki müsabaka esasına dayalı balık avcılığı etkinliğini,*" olarak tanımlanmaktadır (BSGM, 2022). Sportif balık avı yarışmaları amatör olta balıkçılığı dernekleri ya da federasyonları tarafından Balıkçılık Su Ürünleri Genel Müdürlüğü'nden izin alınarak yapılandırılmaktadır.

Amatör balıkçılık gelişmiş ülkelerde milyarlarca dolarlık bir ekonomi yaratırken, bazı gelişmekte olan ülkelerde sosyal ve ekonomik bir araç olarak ortaya çıkmaktadır (Parkkila vd., 2010). Günümüzde dünya genelinde amatör balıkçılıkla ilgilenen yaklaşık olarak 700 milyon kişinin olduğu tahmin edilmektedir (Cooke & Cowx, 2004). Gerek ekonomik gerekse de sosyo-kültürel etkilerindeki artıya bağlı olarak amatör balıkçılık günümüzde küresel balıkçılığın önemli bir bileşeni haline gelmiştir (Pawson vd., 2008).

Amatör balıkçılık temel olarak herhangi bir piyasa gücüne maruz kalmadığı için profesyonel veya ticari balıkçılıktan farklı olarak girişin serbest olduğu bir aktivitedir. Bu durum amatör balıkçılığa dâhil olmayı kolaylaştırırken, bu aktivitenin yönetimini de güçlendirmektedir. Son yıllarda kıyısal alanda ve kıyıya yakın denizel alanlarda sayısı gittikçe artan rekreatif aktiviteler turizm için oldukça önemli bir potansiyel oluşturmaktadır (Markovic vd., 2009).

Amatör balıkçılık, gerçekleştirildiği bölgede doğrudan ve dolaylı ilişkili olduğu sektörlerde ekonomik bir aktivite yaratır. 19 Avrupa ülkesinde %9,5 oranla toplamda 44,8 milyon amatör balıkçı bulunmaktadır. Yılda 25 milyon amatör balıkçının 25 milyar Avro ekonomisinin olduğu bilinmektedir (Gaudin & De Young, 2007).

İnsanlar refah düzeyleri arttıkça eğlenceye, boş vakit geçirme aktivitelerine, sportif amaçlı uğraşlara daha çok zaman ve para ayırmaktadır. Doğaya iç içe yapılan amatör balıkçılık, birçok kıyısal ülkede bu uğraşların başında gelmektedir. Sutinen ve Johnston (2003), amatör balıkçılığın, Kanada, İtalya, İspanya ve Amerika Birleşik Devletleri gibi birçok ülkede gerçekleştirilen popüler bir deniz rekreatif aktivitesi olduğunu bildirmektedir.

Sportif (Amatör) Olta Balıkçılığı, Dinlenme, eğlenme, spor ve doğayla iç içe olma amacı taşıyan rekreatif bir etkinlik olarak ifade edilebilir. Bu amacıyla bir ülkeden diğer bir ülkeye turlar düzenlenerek büyük paralar karşılığında gruplar halinde insanlar götürülmektedir. Örneğin Japonya'dan Avustralya'ya bu amaç için düzenlenen 7 günlük paket programına katılmanın kişi başına bedeli 4.200 \$USD ve Tayland için ise 2.300 \$USD'dır (Anonim, 2001).

Amatör olta balıkçılığının turizme katkısı azımsanmayacak kadar etkili olduğu bilinmektedir. Ancak amatör olta balıkçılığı turizminin sürdürülebilir kalkınmada pozitif bir yer alabilmesi için çevre korumaya önem verilmesi gerekmektedir. Bu nedenle turizm, artık yalnızca ekonomik yararları açısından değil, özellikle toplumsal ve fiziki çevre üzerindeki etkileri yönünden de bilimsel araştırmalara konu olmakta, hatta araştırmalarda ekonomik yararlar ve etkilerin其实de yarara dönüşüp dönüşmediği sorgulanmaktadır. Son zamanlarda rekreatif balıkçılık turnuvaları dünyanın gelişmiş ve gelişmekte olan birçok ülkesinde sportif, sosyal ve ekonomik katkılarından dolayı yoğun şekilde yapılmaktadır. Özellikle turnuvalar sayesinde amatör balıkçılık yapan kişiler birbirleriyle kaynakşamaları söz konusu olmaktadır. Yöre halkına önemli ekonomik girdileri de söz konusudur. Birbirlerine deneyimlerini anlatan ve aralarında kaynaşan bu balıkçılardan kurdukları dernekler öncülük ederek, turnuvaların yapılması ve sürdürülebilir balıkçılık açısından önemli rol oynamaktadır.

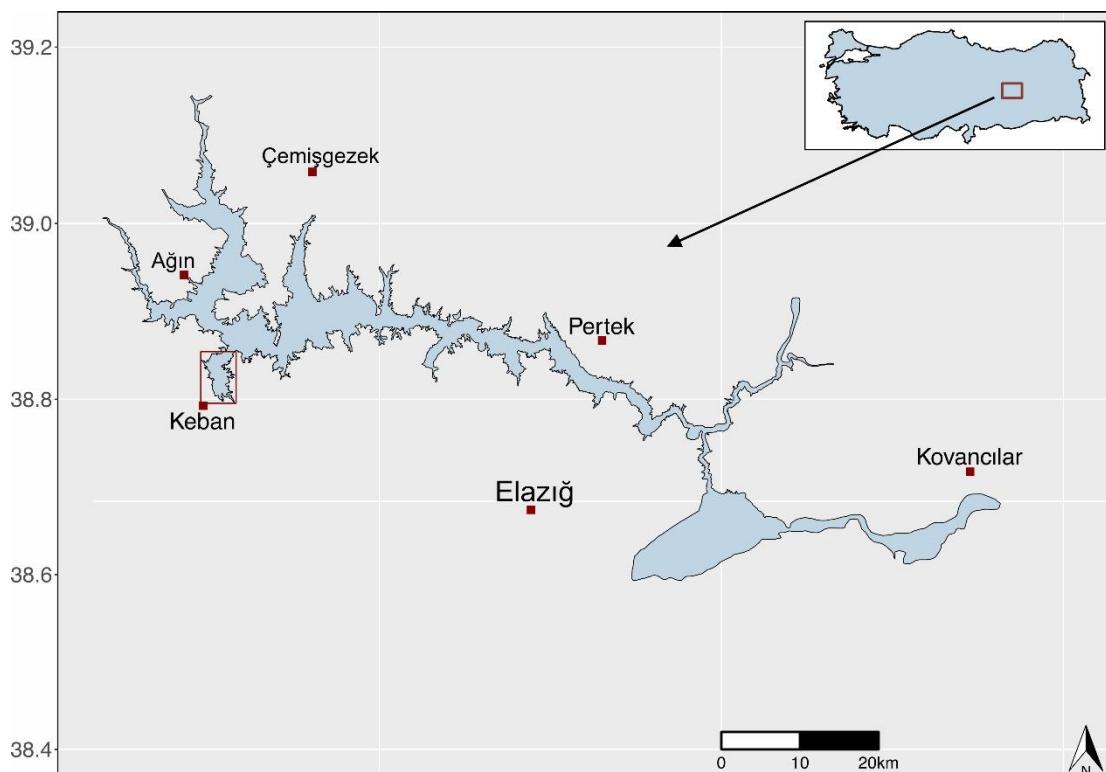
Dünyada ticari balık avcılığının önemi gün geçtikçe balık stokları lehine azalırken amatör balıkçılık aktiviteleri, stokları koruma ve stoklara verdiği faydalardan neticesinde günümüzde önemli hale gelmiştir. Amatör olta balıkçılığında kullanılan tekneler ve buna bağlı olarak kullanılan olta ve malzemeleri ekonomik olarak önemli seviyelere gelmiştir. Ülkemizde amatör balıkçı sayısı net olmadığı için, ekonomik boyutu hakkında bilgiler kısıtlı kalmaktadır. Amatör olta balıkçılığı belgesi zorunlu bir belge olmamasına rağmen, yaklaşık olarak bir milyon kişi bu zevkli aktiviteyi yaptığı tahmin edilmektedir. Bu kadar büyük bir potansiyeli olan sektörün sosyal ve ekonomik özellikleri ile ilgili

çalışma sayısı oldukça azdır (Ateşşahin & Cilbiz, 2018; Ateşşahin & Cilbiz, 2019). İnsanların hangi amaçla, ne kadar para ve zaman harcayarak amatör balıkçılık ile uğraştığı tam olarak bilinmemektedir. Buna karşılık, ticari avcılık yapılan su kaynaklarının neredeyse tamamında amatör avcılık faaliyetinin de yoğun şekilde yapıldığı görülmekte olup avlanan balığın miktarı, ülke ekonomisine katkısı, stoklardan yararlanma oranları ile ilgili herhangi bir resmi kayıt bulunmamaktadır. Hem denizlerde hem de tatlısularda bölgesel ayrılmak üzere yapılmaksızın birçok turnuvalar düzenlemektedir. Tarım ve Orman Bakanlığı iznine tabii olan bu turnuvalarda amatör olta balıkçılığından kaynaklanan avcılık verimlilikleri toplanmaktadır. Ancak bu veriler sadece kaç tane balık yakalandığı, kaç tanesinin suya iade edildiği gibi konuların dışına çıkmamaktadır. Yarışmaya katılan amatör olta balıkçının sayıları, birim çabaya düşen avcılık verimlilikleri gibi hesaplamalar yapılmamaktadır. Ülkemizde turnuva kayıt sistemlerinin artmasıyla birlikte bu tarz kayıtların tutulması gerekliliği vardır.

2. MATERİYAL ve METOT

Çalışmaya konu olan turnuva 26-27 Mart 2022 tarihlerinde düzenlenmiş olup, 65 farklı ilden toplamda 238 amatör balıkçı katılım sağlamıştır. Turnuva Elazığ Sportif Olta Balıkçıları ve Su Hayatını Koruma Derneği tarafından organize edilmiştir. Turnuva kuralları gereği sadece yasal boy sınırlarındaki alabalıkların avlanmasına izin verildiğinden dolayı diğer türler ve 25 cm toplam boyun altındaki bireyler suya geri bırakılmıştır. ***"Hobi değil tutku, yarış değil dostluk"*** ifadesi turnuva sloganı olarak kullanılmıştır.

Turnuva Keban Baraj Göl'ünün 3. Avlak sahasında yer alan ve S.S. Keban Su Ürünleri Kooperatifü tarafından işletilmekte olan ve Şekil 1'de gösterilmiş alanda gerçekleştirilmiştir. Tekne kullanımının yasak olduğu turnuvada, avcılık kıyıdan gerçekleştirilmiştir. Her 20 metrede iki kişi olacak şekilde belirlenen avlanma noktaları, amatör balıkçılar arasında kura çekimi ile tesadüfi olarak paylaştırılmıştır.



Şekil 1. Turnuva avlak sahası

Organizasyon komitesi tarafından yarışmaya katılan amatör balıkçılara kurallar hakkında gerekli bilgilendirmeler yapılmıştır. Minimum av boyunun 25 cm olduğu, ayrıca katılımcılardan uygulanan avcılık tekniğinin belirlenmesine yönelik olarak, avcılıkta kullanılan iğne tipinin (*i*), avcılık sonrası

kanama durumunun (*ii*) ve iğnenin balığın hangi noktasına tutunduğu (*iii*), kanama gözlemlenip gözlemlenmediği (*iv*) gibi bilgilerin kaydedilmesi istenmiştir. İki kişilik takımlar halinde gerçekleştirilen turnuva bir-buçuk gün sürmüştür, her bir amatör balıkçı toplam 14 saat avcılık gerçekleşmiştir. Turnuva boyunca elde edilen parametrik (toplam boy, iğnenin çıkarılma süresi) ve parametrik olmayan veriler (iğnenin balık vücuduna tutunma noktası, iğnenin kanamaya neden olup olmadığı, avcılıkta kullanılan iğne tipi, avcılık sonunda avın canlı kalma durumu) formlara kaydedilmiştir.

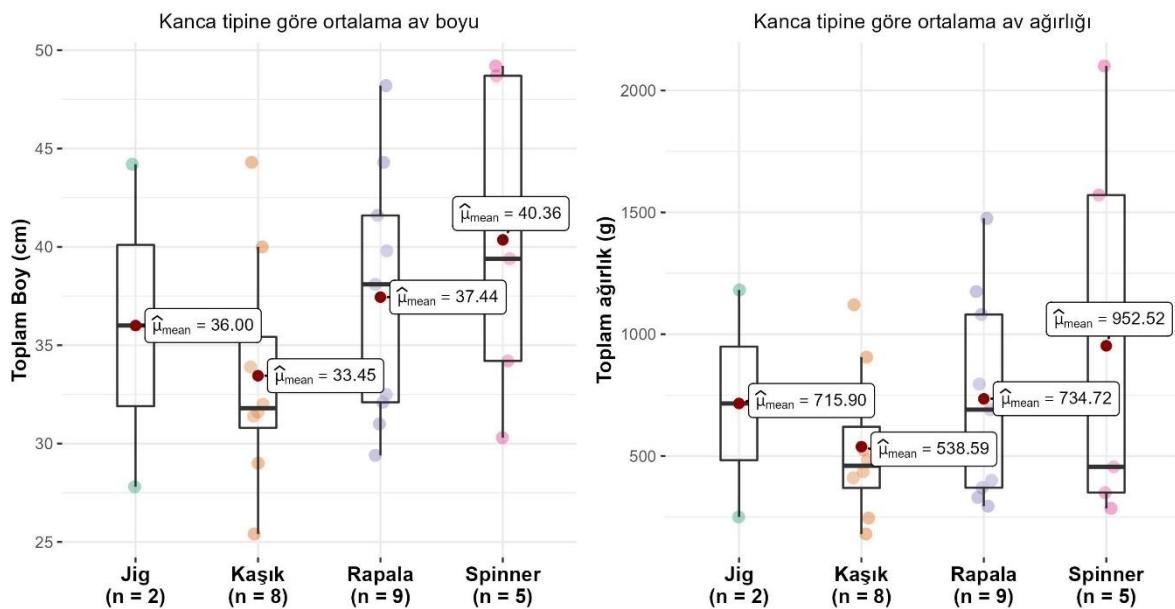
Turnuvada kullanılan farklı olta tiplerinin birim çabaya düşen av miktarları adet (*CPUE*) ve ağırlığa (*YPUE*) göre Aydin (2011) tarafından bildirilen aşağıdaki formüller [1, 2] yardımı ile hesaplanmıştır. Verilerin normal dağılım içerisinde yer alıp olmadığı belirlenmesinde “*Shapiro-Wilk normality test*” kullanılmıştır. Normal dağılım göstermiş olan verilerin karşılaştırılmasında *ANOVA*, test gruplar arasındaki farklılığın belirlenmesinde de *TUKEY^{HSD}* test kullanılmıştır. Tüm istatistiksel değerlendirmeler 0,05 önem düzeyinde Rstudio (v2022.07.1) bilgisayar programında yürütülmüştür.

$$CPUE = \frac{\sum \text{adet} (n)}{\sum \text{iğne sayısı} \times \sum \text{Operasyon sayısı} \times \text{avcılık süresi}} \quad 1$$

$$YPUE = \frac{\sum \text{adet} (n)}{\sum \text{iğne sayısı} \times \sum \text{Operasyon sayısı} \times \text{avcılık süresi}} \quad 2$$

3. BULGULAR

Çalışma sonucunda amatör balıkçıların dört farklı olta takımı (Jig, Kaşık, Rapala ve Spinner) kullandıkları belirlenmiştir. Avlanan balıkların olta tiplerine göre toplam ağırlık ve boy dağılımları Tablo 1’de verilmektedir. Hem ağırlık hem de adet bakımından en verimli olta takımı Rapala, en verimside Jig olmuştur. Olta tipine göre avın ortalama ağırlıkları istatistiksel farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Spinner ile avlanan balıkların ortalama boyları diğer olta tiplerine göre daha yüksek bulunmuştur, ancak bu durum istatistiksel farklılık göstermemiştir (Şekil 2) ($p>0,05$).



Şekil 2. Avlanan alabalıkların olta tipine boy ve ağırlık dağılımları

Tablo 1. Yakalanan balıkların olta tipine boy ve ağırlık dağılımı

Olta tipi	N	Boy (cm)		Ağırlık (g)	
		Ort.±SH	Min.-Max.	Toplam	Ort.±SH
Jig*	2	36,0±8,2	27,8 - 44,2	1431,8	715,9±465,6
Kaşık	8	33,5±2,1	25,4 - 44,3	4308,7	538,6±113,2
Rapala	9	37,4±2,2	29,4 - 48,2	6612,5	734,7±142,8
Spinner	5	40,4±3,8	30,3 - 49,2	4762,6	952,5±371,1

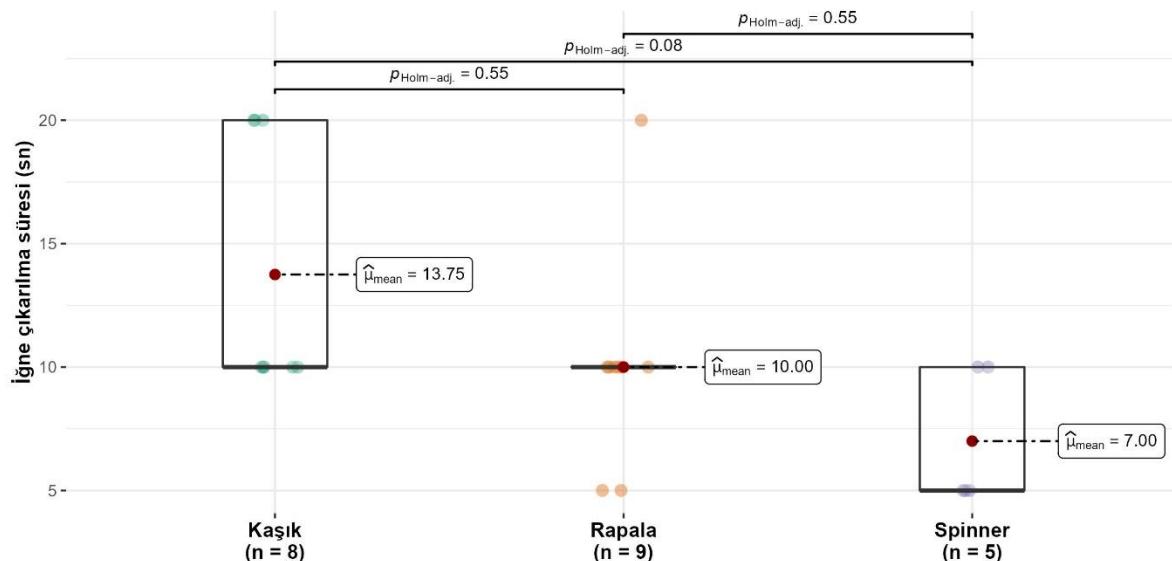
*: Yetersiz örnek sayısı nedeniyle ANOVA testine dahil edilmemiştir.

Genel olarak her dört olta tipinin de alabalık vücutuna çoğunlukla alt çeneden tutunduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Bu genellemeyi sadece Jig bozmuş olup alt çene ve her iki çene oranı eşit bulunmuştur. Spinner'da alabalıkların her iki çenesine de tutunma durumu gözlemlenmemiştir (Şekil 3).

Tablo 2. Olta tiplerine göre iğnenin balık vücutuna tutunma noktaları

İğne türü	Anatomik durum	Adet (n)	Oran (%)
Jig	Alt çene	1	50
	Her iki çene	1	50
Kaşık	Alt çene	6	75
	Her iki çene	1	12,5
	Üst çene	1	12,5
Rapala	Alt çene	5	55,6
	Her iki çene	2	22,2
	Üst çene	2	22,2
Spinner	Alt çene	4	80
	Üst çene	1	20

Avcılık sonrası kanama vakası iki balıkta gözlemlenmiş olup kanamanın olduğu olta tiplerinin Kaşık ve Rapala olduğu belirlenmiştir. Avın %83,3'ünde herhangi bir kanama durumu bildirilmemiştir. İğnelerin ortalama çıkarılma süreleri Jig, Kaşık, Rapala ve Spinner için aynı sıra ile 7,5, 13,8, 10,0 ve 7,0 sn olarak bulunmuştur. Bu kapsamda en kısa sürede çıkarılan olta tipinin Spinner, en geç çıkarılan ise Kaşık olduğu söylenebilir. Olta tipine göre iğnelerden çıkarılma süreleri arasında istatistiksel farklılık belirlenmiştir ($p<0,05$) (Şekil 3).



Şekil 3. Olta tipine göre iğnelerin çıkarılma süreleri

Tüm turnuva boyunca gerçekleşen avcılığın CPUE ve YPUE değerleri aynı sıra ile 0,0072 (iğne/n/saat) ve 5,1367 (iğne/g/saat) olarak bulunmuştur (Tablo 3). CPUE bakımından kaşık en verimli Jig en verimsiz, YPUE bakımından da Rapala en verimli Jig en verimsiz olta olmuştur.

Table 3. Olta tipine göre CPUE (iğne/n/saat) ve YPUE (iğne/g/saat) değerleri

Parametre	Genel	Jig	Kaşık	Rapala	Spinner
CPUE	0,0072	0,0018	0,0072	0,0081	0,0045
YPUE	5,1367	0,4297	1,2931	1,9845	1,4293

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Amatör olta balıkçılığı turnuvaları, bir grup balıkçının belirli bir süre içinde en büyük veya en ağır balığı yakalamak için yarıştığı organizasyonlar olarak tanımlanmaktadır. Bu turnuvalar genellikle bölgesel düzeyde düzenlenir ve genellikle amatör balıkçılar arasında popülerdir. Bu tür turnuvaların amaçları arasında, balıkçılık becerilerini geliştirmek, deneyim kazanmak, yeni insanlarla tanışmak, çevreye duyarlı olmak ve sonuç olarak ödüller kazanmak yer alır (Cooke ve diğ., 2013). Amatör olta balıkçılığı turnuvaları, aynı zamanda balık popülasyonlarının yönetimi ve korunması için önemli bir araç olarak da görülebilir. Bu turnuvalar, belirli bir bölgedeki balık stoklarını izlemek ve analiz etmek için veriler sağlayabilir. Bu veriler, balık stoklarının durumunu, büyümeye hızını, tür çeşitliliği ve popülasyon yoğunluğu gibi faktörleri değerlendirmek için kullanılabilir (Cooke vd., 2015). Ayrıca, amatör olta balıkçılığı turnuvaları, insanların doğayı ve çevreyi korumaya yönelik bilincinin artmasına da katkıda bulunabilir. Turnuvalar sırasında, çevreye karşı duyarlılık ve sürdürülebilir balıkçılık uygulamaları hakkında bilgi verilmesi, katılımcıların ve izleyicilerin bu konularda daha bilinçli olmasına yardımcı olabilir (Boucek vd., 2023).

Yapılan çalışmalarda yakala-bırak (catch & realise) olarak değerlendirilen balık türlerinde iğne lokalizasyonu ve kanama durumları balığın tekrar suya iade edilmesinde en önemli faktörler arasında yer almıştır. Aşırı derecede kanama olan durumlarda balıkların iğnelерden kaynaklanan ölüm oranlarına ilişkin önemli bulgular tespit edilmiştir (Cooke & Cowx, 2004). Yapılan bu çalışmada genel olarak her dört olta tipinin de alabalık vücuduna çoğulukla alt çeneden tutunduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Bu genellemeyi sadece Jig bozmuş olup alt çene ve her iki çene oranını eşit çıkıştır. Bu durumun örnek yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Skov vd. 2022'de *Salmo trutta* deniz alabalığının olta balıkçılığı davranışları, iğnelerin yakaladığı bölgelere ve kanama durumunun az ve çok olma durumuna göre ölüm oranları üzerine etkilerini araştırmışlardır. 35,826 alabalık üzerinde yapılan çalışmada; % 46 ile spin balıkçılığı, %35'i ise Fly Balıkçılığı şeklinde gerçekleştigi tespit etmişlerdir. Balık avlanabilir boy limitinin altında

olduğunda, %80,0 oranında suya geri iade edildiğini tespit etmişlerdir. Yakalanan balıkların %25,0'inde kanama gerçekleştigini, ancak %2' sinin aşırı kanama olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada ise turnuva boyunca avlanan alabalıklardan %8,3'ünde az seviyede kanama gözlemlenmiştir. Turnuva sırasında bir saat yakalandığı bölgede suda bekletilen alabalıklarda iğnelerden kaynaklı ölüm oranları gözlemlenmemiştir.

Dünyada amatör balıkçılar tarafından yakalanan yaklaşık 47 milyar balık avlandığı tahmin edilmektedir. Gerek gönüllü olarak gerekse yasa koyuculardan kaynaklı olarak % 60 civarında balığın tekrar alıcı suya iadesi söz konusudur (FAO, 2012). Ülkemizde ise yakalanan balık miktarları ve yakala- bırak oranları hakkında veri eksikliği mevcuttur. Amatör olta balıkçılığının gelişmesine bağlı olarak yakalanan balık miktarları, türü, avlanma boyları, iğne tipi, olta tipi, kanama durumları gibi parametrelerin kayıt altına alınmasına bağlı olarak sürdürülebilir balıkçılığa ve stoğun zarar görmemesine katkı sağlayacaktır.

Yakalanan balıklardaki iğnelerin çıkarılma süresi de ölüm oranları üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir. İğneden çıkışma süreleri azaldıkça ölüm oranlarında azalmalar söz konusudur. (Ateşşahin, 2019). Bu çalışmada ise iğnelerin ortalama çıkışma süreleri Jig, Kaşık, Rapala ve Spinner için aynı sıra ile 7,5, 13,8, 10,0 ve 7,0 sn olarak bulunmuştur. Bu kapsamda en kısa sürede çıkarılan olta tipinin Spinner en geç çıkarılan ise Kaşık olduğu tespit edilmiştir. Genellikle amatör olta balıkçılığı turnuvaları özelinde tecrübeli balıkçılar katılmaktadır. Katılan amatör olta balıkçılarının iğnelerden çıkışma sürelerinin az olmasına ve buna bağlı ölüm oranının olmamasına neden olduğu düşünülmektedir.

Rekreasyonel balıkçılık yönetiminde yakalanan balığın tekrar suya iade edilmeleri konusunda tartışmalar mevcuttur (Paukert vd., 2001; Radomski vd., 2001). Bazı araştırmacılarla göre yakalanan balık tekrar suya iade edilmeleri halinde ölüren (Munuoke & Childress, 1994) bazı araştırmacılarla göre iade edilen balığın yaşamsal faaliyetleri, büyümeleri gibi konularda azalmalar meydana geldiği bildirilmiştir (Cooke vd., 2002; Arlinghaus vd., 2007). Bu çalışmada bir saat süre içerisinde iğnelerden kaynaklı herhangi bir ölüm oranı gerçekleşmemiştir.

Amatör olta balıkçılığı turnuvaları, eğlenceli ve rekabetçi bir etkinlik olmanın yanı sıra, balık stoklarının yönetimi ve korunması için önemli bir araç da olabilir. Ancak *Oncorhynchus mykiss* içsularda ekolojik açıdan zararlı türler arasında yer almaktadır (BSGM, 2022). Bu nedenle *Oncorhynchus mykiss* türünün diğer türler üzerinde baskilar oluşturduğu bilinmektedir. Amatör olta balıkçılığı ile *Oncorhynchus mykiss* türünün diğer türler üzerindeki baskuları azaltması açısından turnuvaların yaygınlaştırılması sürdürülebilir balıkçılık uygulamalarının teşvik edilmesi açısından önemli olacaktır.

Ülkemizde zaman içerisinde amatör balıkçılık ile ilgili çalışmaların artışı bağlı olarak, elde edilecek verilerin miktar ve kalitesinde de önemli bir artış olması beklenmektedir. Bilimsel çalışmalar ile toplanacak verilerin kayıt altına alınması, gerekli mercilere yorumlanması ve yönetim aşamasında kullanılmasının yolu açılmış olacaktır. Ülkemizde ticari su ürünlerini stoklarının sürdürülebilir yönetiminin sağlanması yönelik olarak veri toplama süreci farklı mecralarda sürdürülmemekte iken amatör balıkçılığa yönelik herhangi bir veri toplama süreci tam anlamıyla başlatılamamıştır. Sonuç olarak hem amatör hem de ticari balık avcılığının da içerisinde bulunduğu balıkçılık kaynaklarının daha etkin korunması ve sürdürülebilirliğinin sağlanması yöneltik olarak balıkçılık politikalarının belirlenmesinde kilit öneme sahip olan nitelik bilimsel veri toplanması sürecinin geliştirilmesi gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Yazarlar desteklerinden dolayı Elâzığ Sportif Olta Balıkçıları ve Su Hayatını Koruma Derneği'ne teşekkürlerini sunmaktadır. Bu çalışma 6. Ulusal Alabalık Sempozyumunda sözlü sunum olarak sunulmuştur.

FİNANS

Bu çalışmada herhangi bir kişi ya da kurumdan finansal destek alınmamıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedirler.

YAZAR KATKILARI

TA: çalışmanın tasarılanması, verilerin elde edilesi ve derlenmesi, taslak makalenin yazılması; **MC:** verilerin değerlendirilmesi, taslak makalenin yazılması, makalenin revize edilmesi.

ETİK ONAY BEYANI

Rutin amatör avcılık operasyonu ile elde edilmiş balıklara herhangi bir deneysel işlem yapılmadığı için, etik kurul onayı alınmasına gerek yoktur.

VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Talep edilmesi durumundan çalışma verileri sorumlu yazar tarafından paylaşılacaktır.

KAYNAKLAR

- Anonim. (2001). *Sürdürülebilir Avcılık İçin Temel Eğitim Kitabı*, Orman Bakanlığı, Milli Parklar ve Av Yaban Hayatı Genel Müdürlüğü, Eğitim Yayınları-1, Ankara.
- Arlinghaus, R. & Cooke, S. J. (2009). Recreational fisheries: socioeconomic importance, conservation issues and management challenges. In B. Dickson, J. Hutton & W. M. Adams (Eds.), *Recreational hunting, conservation and rural livelihoods: science and practice* (pp. 39–58). Blackwell Publishing. <https://doi.org/10.1002/9781444303179.ch3>
- Arlinghaus, R., Cooke, S. J., Lyman, J., Policansky, D., Schwab, A., Suski, C., Sutton, S. G. & Thorstad, E. B. (2007). Understanding the complexity of catch and release in recreational fishing: an integrative synthesis of global knowledge from historical, ethical, social, and biological perspectives. *Reviews in Fisheries Science*, 15, 75–167. <https://doi.org/10.1080/10641260601149432>
- Atessahin, T. (2019). Bleeding status, handling time and initial mortality of recreational fisheries in chub (*Squalius cephalus*) (Linnaeus 1758). *Fresenius Environmental Bulletin*, 28(4A), 3401-3407.
- Ateşşahin, T. & Cilbiz, M. (2018). Türkiye İç Su Amatör Balıkçılığında ‘Amatör Balıkçı Belgesi’. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 4(2), 103-111. <https://doi.org/10.17216/limnofish.374113>
- Ateşşahin, T. & Cilbiz, M. (2019). Amatör İç Su Balıkçılarının Sosyo-Demografik Özellikleri: Türkiye Örneği. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 7(1), 134-141. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i1.134-141.2326>
- Aydın, İ. (2011). Is natural bait type a stochastic process for size and condition of fishes in the recreational fishery of İzmir Bay?. *Mediterranean Marine Science*, 12(2), 390-400.
- Boucek, R. E., Rehage, J. S., Castillo, N. A., Dwoskin, E., Lombardo, S. M., Santos, R., ... & Adams, A. J. (2023). Using recreational tournament records to construct a 53-year time series of the Florida Keys recreational Bonefish fishery. *Environmental Biology of Fishes*, 106, 279–291.
- BSGM, 2022. 5/2 Numaralı Amatör Amaçlı Su Ürünleri Avcılığının Düzenlenmesi Hakkında Tebliğ, Erişim Tarihi: 25.10. 2022.
- Cooke, S. J. & Cowx, I. G. (2004). The role of recreational fisheries in global fish crises. *BioScience*, 54, 857–859. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0857:TRORFI\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0857:TRORFI]2.0.CO;2)
- Cooke, S. J., Schreer, J. F., Dunmall, K. M. & Philipp, D. P. (2002). Strategies for quantifying sub lethal effects of marine catch and release angling: insights from novel freshwater applications. *American Fisheries Society*, 121-134. <https://doi.org/10.47886/9781888569308.ch16>
- Cooke, S. J., Suski, C. D., Arlinghaus, R., & Danylchuk, A. J. (2013). Voluntary institutions and behaviours as alternatives to formal regulations in recreational fisheries management. *Fish and Fisheries*, 14(4), 439-457.
- Cooke, S. J., Arlinghaus, R., Johnson, B. M., & Cowx, I. G. (2015). Recreational fisheries in inland waters. *Freshwater fisheries ecology*, 449-465.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations) (2012) *Technical Guidelines for*

- Responsible Fisheries: Recreational Fisheries.* Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 176 pp.
- Gaudin, C., & De Young, C. (2007). *Recreational Fisheries in the Mediterranean Countries: a Review of Existing Legal Frameworks, Studies and Reviews.* General Fisheries Commission for the Mediterranean, 81, (85 pp.). FAO.
- Markovic, M., Satta, A., Skaricic, Z. & Trumbic, I. (2009). Sustainable Coastal Tourism: An integrated planning and management approach, the Priority Actions Programme Regional Activity Centre (PAP/ RAC), United Nations Environment Programme, Division of Technology, Industry and Economics (UNEP-DTIE) “Practical Manuals on Sustainable Tourism” publication series.
- Muoneke, M. I. & Childress, W. M. (1994). Hooking mortality: a review for recreational fisheries. *Reviews in Fisheries Science*, 2(2), 123–156. <https://doi.org/10.1080/10641269409388555>
- Parkkila, K., Arlinghaus, R., Artell, J., Gentner, B., Haider, W., Aas, Q., Barton, D., Roth, E. & Sipponen, M. (2010). Methodologies for assessing socioeconomic benefits of European inland recreational fisheries, FAO European Inland Fisheries Advisory Commission Occasional Paper No: 46, Ankara, FAO, 112 p.
- Paukert, C. P., Klammer, J. A., Pierce, R. B. & Simonson, T. D. (2001) An overview of northern pike regulations in North America. *Fisheries*. 26(6), 6–13. [https://doi.org/10.1577/1548-8446\(2001\)026<0006:AOONPR>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8446(2001)026<0006:AOONPR>2.0.CO;2)
- Pawson, M. G., Glenn, H., & Padda, G. (2008). The definition of marine recreational fishing in Europe. *Marine Policy*, 32(3), 339-350. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2007.07.001>
- RStudio Team. RStudio: Integrated Development Environment for R [Internet]. Boston, MA; 2022. <http://www.rstudio.com/>
- Radomski, P. J., Grant, G. C., Jacobson, P. C., & Cook, M. F. (2001). Visions for recreational fishing regulations. *Fisheries*, 26(5), 7-18. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2007.07.001>
- Skov, C., Gundelund, C., Weltersbach, M. S., Ferter, K., Bertelsen, S. K., & Jepsen, N. (2022). Catch and release angling for sea trout explored by citizen science: Angler behavior, hooking location and bleeding patterns. *Fisheries Research*, 255, 106451. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2022.106451>
- Sutinen, J.G., Jhonston, R.J., 2003. Angling management organizations: integrating the recreational sector into fishery management, *Marine Policy*, 27:471-487, [https://doi.org/10.1016/S0308-597X\(03\)00079-4](https://doi.org/10.1016/S0308-597X(03)00079-4)

Farklı Ağaç Talaşları ile Dumanlanmanın Türk Somonunun Duyusal ve Mikrobiyolojik Kalitesine Etkileri

The Effects of Smoking with Different Tree Sawdusts on the Sensory and Microbiological Quality of Turkish Salmon

Şengül Bilgin¹, Levent İzci¹, Göknur Sürengil^{1,*}, Fahriye Umut¹

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Isparta, Türkiye

*Sorumlu Yazar: goknursurengil@isparta.edu.tr

Geliş: 30.12.2022

Kabul: 19.04.2023

Yayın: 01.09.2023

Özet: Bilgin, S., İzci, L., Sürengil, G., & Umut, F., (2023). Farklı ağaç talaşları ile dumanlanmanın Türk Somonunun duyasal ve mikrobiyolojik kalitesine etkileri. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 266-276. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1227116>

Özet: Bu çalışmada Türk Somonu olarak adlandırılan ve Karadeniz'de yetişiriciliği yapılan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), kiraz (K), erik (E), ve elma (A) ağaç talaşları kullanılarak sıcak dumanlama işlemeye tabii tutulmuş ve sonrasında $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır. Dumanlanmış Türk Somonunun depolama süresince; mikrobiyolojik (toplasm mezofilik aerobik bakteri-TMAB, toplam psikrofilik aerobik bakteri-TPAB, *Listeria monocytogenes*, maya-küp-MK) ve duyasal (renk, koku, tat, tekstür ve görünüş) analizleri yapılmıştır. Ürünlerin mikrobiyolojik analizlerinden elde edilen sonuçlara göre; çiğ balıkte TMAB sayısı $2,5 \pm 0,02$ log KOB/g, TPAB $2,1 \pm 0,08$ log KOB/g, MK $2,4 \pm 0,03$ log KOB/g, olarak tespit edilmiş olup, sıcak dumanlama işleminin mikroorganizma grupları üzerinde inhibe etkisi gözlenmiştir. Depolamanın sonunda kiraz, erik ve elma talaşı ile dumanlanmış Türk Somonlarında TMAB, TPAB ve MK sayıları sırasıyla $7,85 \pm 0,23$, $7,48 \pm 0,63$, $7 \pm 0,72$; $7,5 \pm 0,86$, $7,21 \pm 0,97$, $6,98 \pm 0,88$; $3,1 \pm 0,28$, $2,78 \pm 0,40$, $2,59 \pm 0,60$ log KOB/g olarak bulunmuş, *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir. Duyusal analiz sonuçlarından, koku ve tekstür açısından farklı talaş kullanımının etkisinin öneksiz olduğu saptanmıştır ($p > 0,05$). Depolamanın sonunda, A grubu örneklerinin mikrobiyolojik ve duyasal olarak en iyi kaliteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler

- Türk Somonu
- Sıcak dumanlama
- Farklı ağaç talaşları
- Kalite
- Soğuk depolama

Abstract: In this study, rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), which is called Turkish Salmon and farming in the Black Sea, was subjected to hot smoking process using cherry (K), plum – (E), and apple –(A) tree and then stored at $3 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Smoked Turkish Salmon were performed microbiological (total mesophilic aerobic bacteria -TMAB, total psychrophilic aerobic bacteria -TPAB, *Listeria monocytogenes* yeast-mold -MK) and sensory (color, odor, taste, texture and appearance) analysis during storage. According to the results of microbiological analysis of products; while TMAB, TPAB and MK counts were determined as 2.5 ± 0.02 , 2.1 ± 0.08 and 2.4 ± 0.03 log CFU/g respectively in raw fish meat, it was observed that microorganisms were inhibited in the first week in all groups after hot smoking application. At the end of the storage, the TMAB, TPAB and MK count of trout smoked with cherry, plum and apple shavings respectively were 7.85 ± 0.23 , 7.48 ± 0.63 , 7 ± 0.72 ; 7.5 ± 0.86 , 7.21 ± 0.97 , 6.98 ± 0.88 ; 3.1 ± 0.28 , 2.78 ± 0.40 , 2.59 ± 0.60 log CFU/g, *L. monocytogenes* was not detected. With sensory analysis, it was found that the effect of using different sawdust in terms of odor and texture on smoking trout was insignificant ($p > 0.05$). As a result of 42 days of storage, it was determined that group A samples had the best microbiological and sensory quality.

Keywords

- Turkish Salmon
- Hot smoking
- Different tree sawdust
- Quality
- Cold storage

1.GİRİŞ

Dünyada artan nüfusla birlikte kaliteli ve sağlıklı gıda ürünlerine ulaşmakta güçlükler yaşanmaktadır. Önemli bir protein kaynağı ve diğer besin bileşenleri ile öne çıkan balığa ilgi her geçen



Bu makale, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi tarafından Atif 4.0 Uluslararası (CC BY 4.0) lisansı altında yayınlanmaktadır. <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

gün artmaktadır. Bu nedenle tüketicilerin ulaşılabilir ve besin kalitesi yüksek olan türlere ilgisi artmaktadır. Son yıllarda yaşanan salgınlar bağışıklık sistemi için sağlıklı ve dengeli beslenmenin önemini gündeme getirmiştir.

Gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) ülkemizde yetiştirciliği içsularda 1970'li yıllarda başlamıştır (Emre vd., 2008). Kuzey Amerika kökenli olan Gökkuşağı alabalığı Salmonidae familyası içerisinde yetiştirciliği en yaygın olan türdür. 2019 yılında Tarım ve Orman Bakanlığı Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü tarafından, Türkiye'de özellikle Karadeniz'de üretilen gökkuşağı alabalığı markalaşarak "Türk Somonu" adını almıştır (Özal, 2021). Rusya marketlerinde bu türün "büyük kırmızı Türk balığı" olarak da pazarlandığı bildirilmiştir (FAO, 2022). Ülkemizde 2021 yılı itibariyle 471 bin ton olan yetiştircilik ürünleri arasında gökkuşağı alabalığı üretimi, iç sularda 134 bin ton ve denizde 31 bin ton ile önemli bir paya sahiptir (TÜİK, 2022).

Orta Karadeniz Bölgesi'nde yetiştirciliği yapılan Türk Somonunun besin içeriği ile ilgili yapılan bir çalışmada ham protein içeriğinin %19,04, ham yağ miktارının %6,3 ve toplam omega-3 yağ asitleri değerinin de %12,96 olduğu bildirilmiştir (Keskin vd., 2022). Türk Somonu ile ilgili çalışmalarda bu tür element konsantrasyonu (Öztürk, 2022) ve ağır metal (Öğretmen, 2023) yönüyle incelenmiş ve sağlık açısından uygun olduğu vurgulanmıştır.

Dumanlama işlemi meşe ve kayın gibi sert yapılı ağaçların talaş veya odunları kullanılarak yapılmaktadır. Duman içindeki bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri, dumanlamada uygulanan ısı ve tuzlama gibi işlemler dumanlanmış ürünlerin raf ömrünü artırıcı faktörlerdir (Sikorski, 2016). Dünya genelinde dumanlama tekniği balıklar da dahil olmak üzere birçok gıda uygulanmaktadır. Balık eti kolay bozulabilen gıdalar arasında yer aldığından (Ashie vd., 1996; Sürengil & Kılınç, 2011; Tavares vd., 2021), bozulmayı geciktirmek veya önlemek için balıketine farklı işleme teknikleri uygulanmaktadır. Bu tekniklerden biri dumanlama teknolojisidir. Dumanlama teknolojisi sıcaklık ve duman bileşenleri ile mikroorganizma sayısı ve su aktivitesini düşürerek ürünü aroma da kazandırmaktadır (Kaba vd., 2009). Dumanlama teknolojisi sıcak ve soğuk dumanlama olmak üzere farklı yöntemlerle yapılabilmektedir. Alabalıklara hem sıcak dumanlama hem de soğuk dumanlama teknolojisi uygulanmaktadır (Arvanitoyannis & Kotsanopoulos, 2012). Ülkemizde ise gökkuşağı alabalığına uygulanan yöntem sıcak dumanlama tekniğidir.

Türkiye'de gökkuşağı alabalıkları başarılı bir şekilde dumanlama işlemine tabi tutulmakta ve elde edilen ürünler çeşitli ülkelere ihraç edilmektedir. Türk Somonunun sıcak dumanlanması ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmadığı için böyle bir çalışma düşünülmüştür. Çalışmada sıcak dumanlama işleminde farklı ağaçların odun talaşlarından yararlanılmıştır. Bu çalışmada "Türk Somonu" olarak adlandırılan ve Karadeniz'de yetiştiren balıkların erik ağacı, elma ağacı ve kiraz ağacı talaşları ile sıcak dumanlanması ve soğuk muhafaza süresince mikrobiyolojik ve duyusal kalite değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERİYAL ve METOT

2.1. Materyal

Araştırmanın materyalini oluşturan Karadeniz'de yetiştiren ve Türk Somonu olarak adlandırılan taze gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*) Isparta'ya günlük olarak getirilen balık satış noktasından temin edilmiştir. Her biri Yaklaşık 2,5 kg olan Türk Somonları bekletilmeden Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi (ISUBÜ), Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Birimine getirilmiştir. Çalışmada sıcak kullanılan erik, elma ve kiraz ağaçlarının odunları yerel meyve üreticilerinden temin edilerek hizar atölyesinde talaş haline getirilmiştir. Elde edilen talaşlar ISUBÜ Ziraat Fakültesine ait bitki kurutma tablalarında oda sıcaklığında 7 gün süre ile kurutulmuştur. Kurutma sürecince homojen bir kurutma sağlayabilmek için talaşlar belirli aralıklarla karıştırılmıştır. Kurutulan talaşlar dumanlama aşamasına kadar kapalı kaplarda muhafaza edilmiştir. Dumanlama öncesi salamura solüsyonu için kaya tuzundan imal edilmiş salamura tuzu kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Dumanlama işlemi

ISUBÜ Su Ürünleri Uygulama ve Araştırma Birimine getirilen Türk Somonları temizlenmiş, filetoları çıkarılmış ve dilimlenmiştir. Balıkların temizlenmesinde içme suyu kullanılmıştır. Dilimlenen balık örnekleri %18 (balık/salamura w/v - 1/1) tuz çözeltisinde 20 dakika tutulmuştur.

Daha sonra sularının süzülmesi için yaklaşık 10 dakika bekletilmiştir. Dumanlama işlemi; AFOS tipi örnek alınarak ve talaşın kendi kendine yanması esas alınmış sıcaklık ayarlı termostatlı dumanlama dolabında gerçekleştirilmiştir. Dumanlamada kurutulmuş kiraz ağacı (Grup K), erik (Grup E) ve elma (Grup A) talaşları kullanılmıştır. Türk Somonlarının sıcak dumanlama işlemi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Gıda İşleme Laboratuvarına ait dumanlama dolabında Gülyavuz & Ünlüsayın (1999)'ın bildirdiği yöntemde göre gerçekleştirilmiştir. Sıcak dumanlama işleminde örnekler her bir grup için ilk 30 dk süresince 30 °C'de tutulmuş sonrasında sıcaklık kademeli olarak 50,60 ve 70 °C'ye artırılmıştır. Balık örnekleri son 45 dk 85 °C sıcaklıkta tutulmuştur. Dumanlama sonrasında soğutulan örnekler vakum ambalajlama işlemine tabi tutulmuştur. Dumanlanmış balık örnekleri 18x23 cm ebatında 110 mikron kalınlığında vakum poşetlerinde, vakum paket cihazı (Abant Makine Sanayi, Türkiye) ile paketlenmiştir. Vakum paketlenen örnekler $3\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir (Şekil 1). Çalışmada analizler 3 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 1. Kiraz (K) erik (E) ve elma ağacı (A) talaşları ile dumanlanmış ve vakum paketlenmiş balık örnekleri

2.2.2. Mikrobiyolojik analizler

Dumanlanmış alabalıklar depolamanın 1., 7., 14., 21., 28., 35. ve 42. günlerinde mikrobiyolojik (TMAB, TPAB, *Listeria monocytogenes*, MK) açıdan incelenmiştir. Analiz günlerinde aseptik koşullarda çalışılarak steril bistüri ve pens yardımıyla 10 g örnek ve 90 ml steril % 0.1'lik pepton water (MERCK) ile homojenize edilmiştir. Steril pepton water ile seri desimal dilüsyonlar yapılarak her dilüsyondan yayma plak yöntemiyle ekimleri yapılmıştır. TMAB ve TPAB sayımı için Plate Count Agar (PCA) besiyeri (MERCK 5463), *Listeria monocytogenes* için PALCAM Listeria Selective Agar Base, MK sayımı için YGC agar besiyeri kullanılmıştır. TPAB sayısı için $5-7\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 10 gün, diğer mikroorganizma sayımları için $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 48-72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 30-300 arasında koloni oluşturan plaklar değerlendirilmiştir. Sonuçlar log KOB/g olarak hesaplanmıştır (Harrigan & Mc Cance, 1976).

2.2.3. Duyusal analizler

Duyusal analizler Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi akademik personeli arasından 10 deneyimli panelist tarafından; renk, koku, tat, tekstür ve görünüş değerlendirmeleri yapılmıştır (Kurtcan & Gönül, 1987). Değerlendirmede 1 ile 10 arası puanlama yapılmış ve puanlamada; 1-2 (çok kötü), 3-4

(kötü), 5-6 (Normal), 7-8 (iyi), 9-10 (çok iyi) olacak şekilde değerlendirilmiştir.

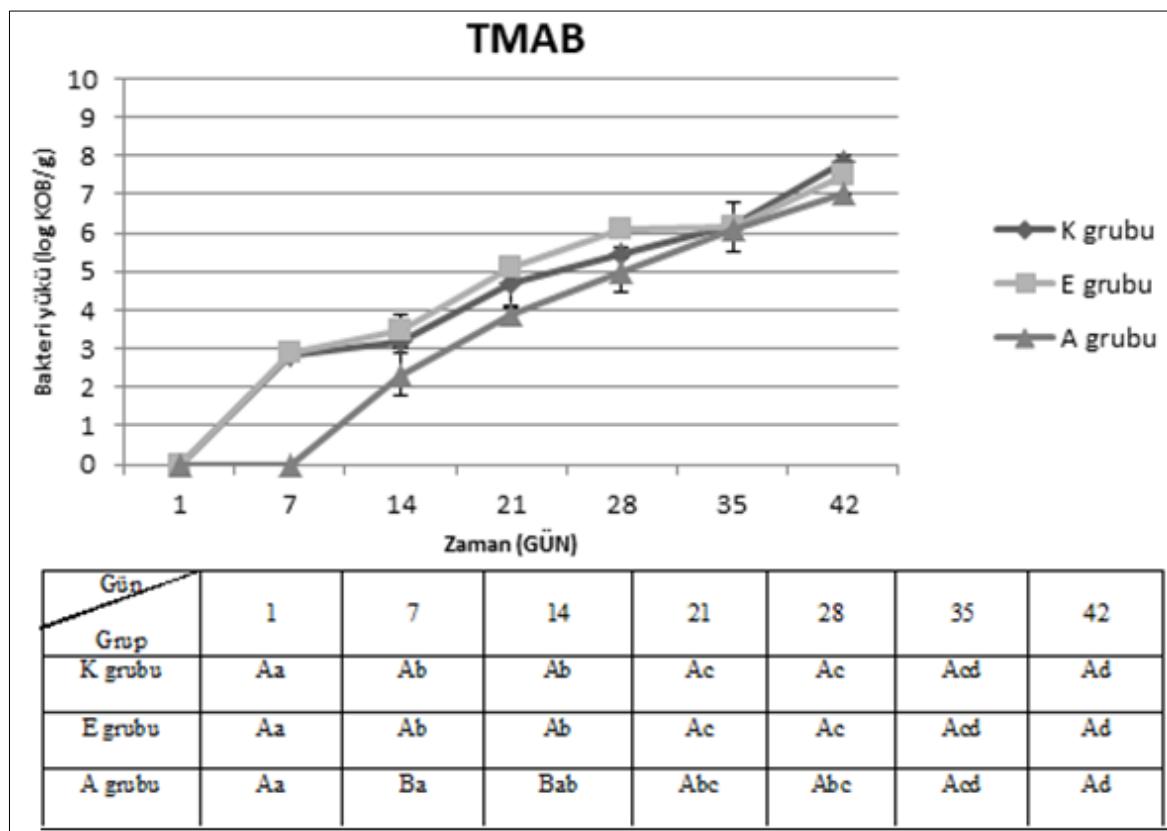
2.2.4. İstatistiksel Analizler

Elde edilen mikrobiyolojik ve duyusal analiz verileri SPSS 22 paket programında Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ile karşılaştırıldıktan sonra gruplar arasındaki önemlilik düzeyinin belirlenmesinde Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi ile ortaya konulmuş olup, bu istatistiksel önem farkı $p<0,05$ ile gösterilmiştir. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir ($n=3$).

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

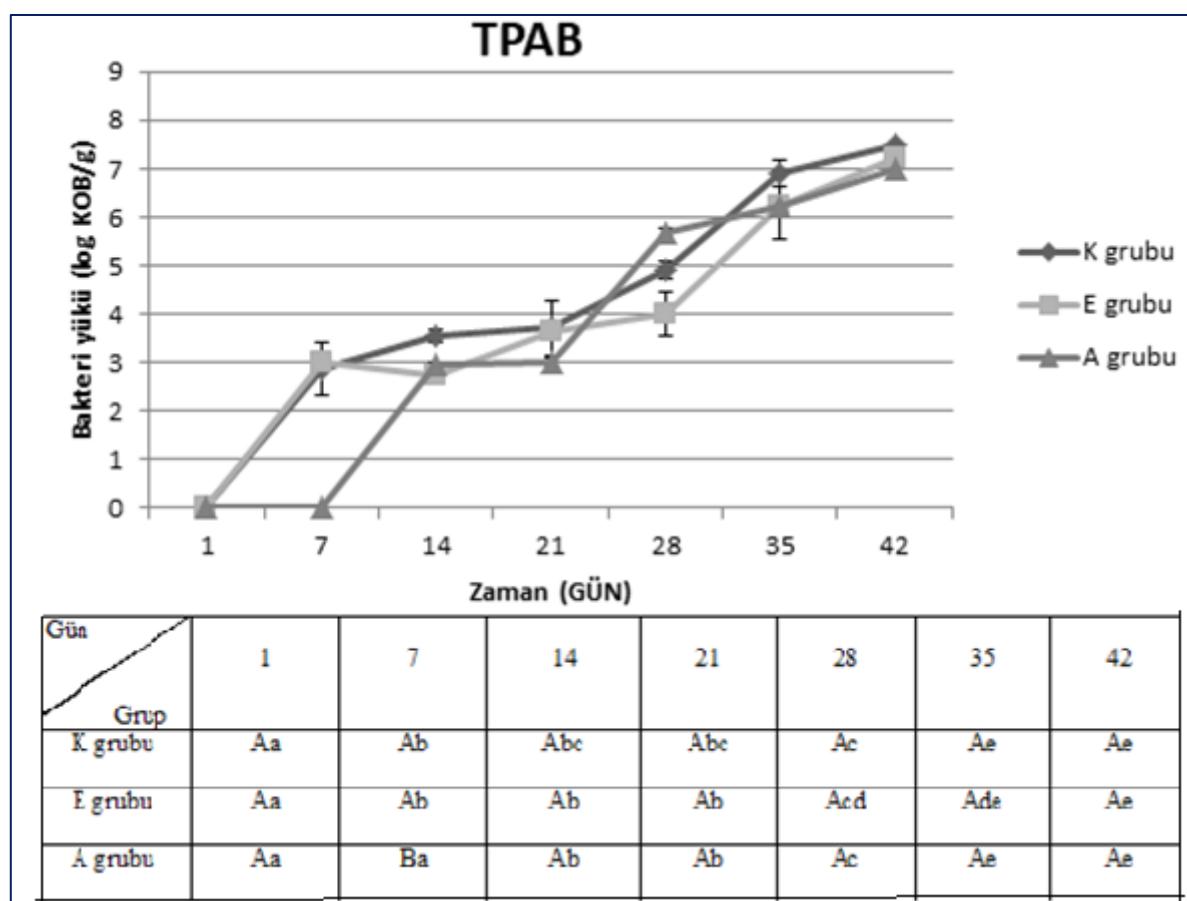
Çalışmamızda erik ağacı, elma ağacı ve kiraz ağacı talaşlarıyla dumanlanmış ve vakum paketlenmiş Türk Somonu örneklerinin depolama süresince TMAB, TPAB, *L. monocytogenes*, MK ve duyusal analizleri gerçekleştirılmıştır. Çiğ balıkette yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda TMAB $2,5\pm0,02$ log KOB/g, TPAB $2,1\pm0,08$ log KOB/g, MK $2,4\pm0,03$ log KOB/g olduğu tespit edilmiştir. E, A ve K grubu örneklerin TMAB değerleri Şekil 2'de verilmiştir.

Gıda kaynaklı psikrotrofik bir patojen olan *L. monocytogenes* sıklıkla tütsülenmiş balık ürünlerinden izole edilmektedir. Soğuk dumanlanmış balıklarda, sıcak tütsülenmiş balıklara göre daha yüksek bir *L. monocytogenes* etkisi görülmektedir (Heinitz & Johnson, 1998). Kaliteli hammaddelerden kontrollü koşullarda, fırınlarda veya tünelerde üretilen dumanlanmış gıdaların, raf ömrü bitmeden tüketildiğinde sağlık üzerinde herhangi bir tehlike oluşturmadığı bildirilmektedir (Sikorski, 2016). Suñen vd. (2003) farklı sıvı duman bileşikleri ile dumanlanmış alabalıkta gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etki üzerine çalışma yapmışlardır. Söz konusu çalışmada alabalıklar %20 tuzlu salamurada bekletildikten sonra sıvı tütsülenmiş ve vakum paketlenerek 4 °C'de depolanmıştır. Çalışma sonunda farklı duman özlerinin *L. monocytogenes*'e karşı inhibitör etki gösterdiğini belirlemiştir. Benzer sonuç çalışmamızda da elde edilmiş, sıcak dumanlanmış örnek gruplarında *L. monocytogenes* tespit edilmemiştir.



Şekil 2. Kiraz, erik, elma talaşıyla dumanlanmış Türk Somonlarının soğuk depolama süresince TMAB sayılarındaki değişimler (log KOB/g) Büyük harfler gruplar arasındaki farkı, küçük harfler günler arasındaki farkı göstermektedir) $p<0,05$)

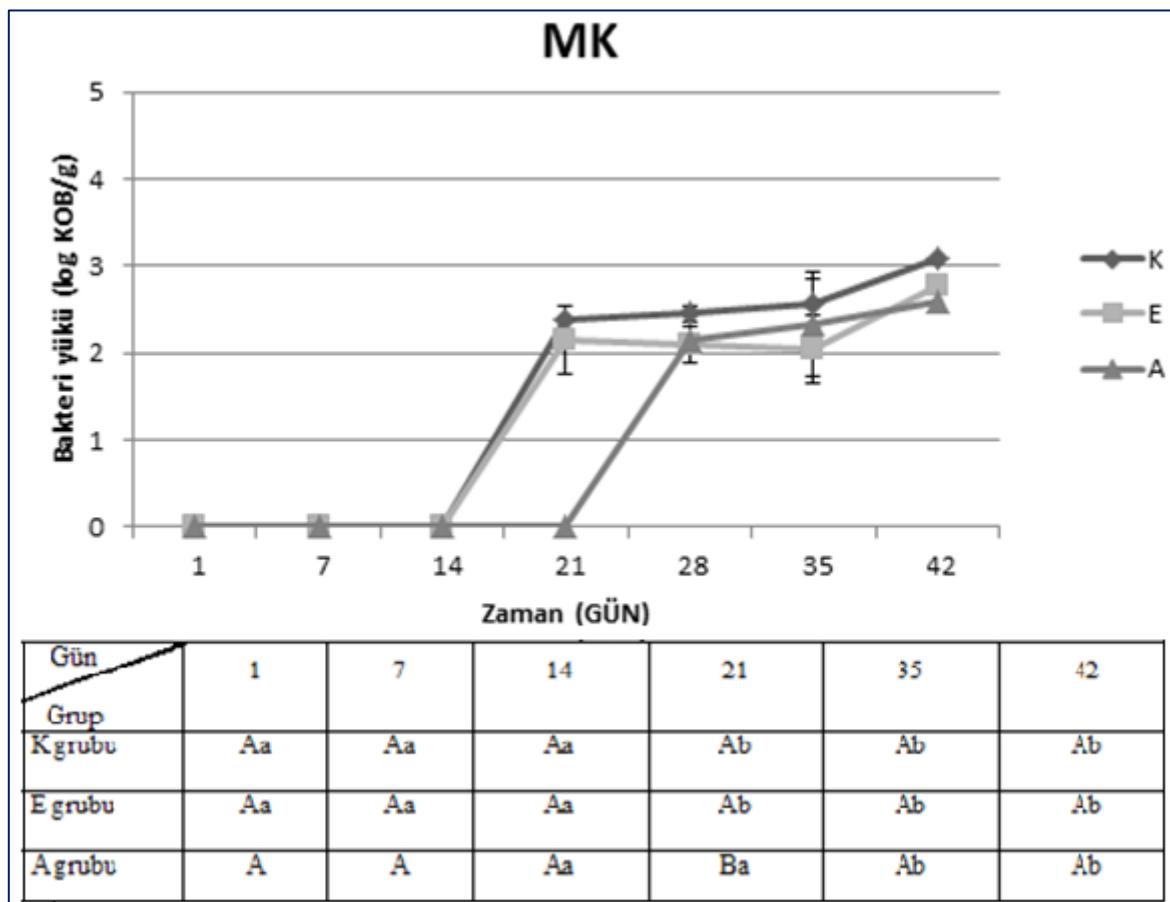
Çiğ Türk Somonu örneklerinde TMAB değeri $2,5 \pm 0,02$ log KOB/g olarak belirlenirken dumanlama sonrasında tespit edilmemiştir. Depolamanın son günü olan 42. günde K grubu $7,85 \pm 0,23$ log KOB/g, E grubu $7,48 \pm 0,63$ log KOB/g, A grubu $7 \pm 0,72$ log KOB/g ile sınır değer (7 log KOB/g) aşılmıştır (ICMSF, 1986). Öz kaya (1995), alabalıklarda başlangıçtaki TMAB sayısını $2,47$ log KOB/g olarak tespit etmiştir. Araştırmacı, sıcak tütsüleyip vakumla paketleme sonrası 4°C 'de muhafaza ettiği örneklerin, depolamanın 1. gününde toplam bakteri sayısını $4,32$ log KOB/g ve 28. gününde $7,67$ log KOB/g olarak belirlemiştir. Bilgin vd., (2008) çipura balıklarının başlangıç TMAB değerinin meşe talaşı ile sıcak dumanlama işlemi ile azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da sıcak dumanlama işleminin raf ömrüne olumlu yansığı, farklı odun talaşı kullanımının ise genel olarak önemli bir değişikliğe neden olmadığı ($p > 0,05$) belirlenmiştir. Doğan ve İzci (2016), sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalığı filetolarında soğuk muhafazanın (4 ± 1 °C) 21. gününe kadar TMAB tespit etmemiştir. Iacumin vd. (2017) dilimlenmiş *O. mykiss* soğuk tütsülenerek vakum paketlenen örneklerin başlangıçta TMAB sayısının tespit edilebilir değerin altında kaldığını ve 15. günden sonra hızlı bir artış olduğunu belirtmiştir. Ayrıca araştırmacılar örneklerde *L. monocytogenes*'e rastlanmadığını ifade etmişlerdir.



Şekil 3. Kiraz, erik, elma talaşıyla dumanlanmış Türk Somonlarının soğuk depolama süresince TPAB (Bakteri yükü log KOB/g) sayılarındaki değişimler ($\log \text{KOB/g}$) (Büyük harfler gruplar arasındaki farkı, küçük harfler günler arasındaki farkı göstermektedir) ($p < 0,05$)

Farklı odun talaşları tütsülenerek vakum paketlenmiş örneklerin soğuk muhafazası sırasında TPAB sayısına ilişkin bulgular Şekil 3'te verilmiştir. Türk Somonu etinin ilk gün TPAB sayısı $2,1 \pm 0,08$ log KOB/g olarak tespit edilirken, dumanlanmış ürünlerin depolamanın sonunda K grubu için $7,5 \pm 0,86$ log KOB/g, E grubu için $7,21 \pm 0,97$ log KOB/g ve A grubu için $6,98 \pm 0,88$ log KOB/g olarak saptanmıştır. Yapılan istatistiksel analizde gruplar arasında TPAB sayısı bakımından fark olmadığı görülmüştür ($p > 0,05$). Ancak depolamanın 7. gününde A grubunda üreme görülmezken, K ve E gruplarındaki değişimin ise istatistiksel olarak genellikle önemli olmadığı gözlenmiştir ($p > 0,05$).

Doğan ve İzci (2016), sıcak dumanlanmış ve kaplama uygulanmamış gökkuşağı alabalığı filetolarında TPAB sayısının depolama süresince (42 gün) sınır değerleri aşmadığı belirtilmiştir. Erkan (2012), sıcak dumanlanmış gökkuşağı alabalıklarını kekik ve sarımsak yağı ile muamele edildikten sonra vakum paketleyerek soğuk ortamındaki raf ömrünü incelemiştir. Çalışmada psikrotrofik bakteri sayıları açısından tüm gruplarda 6 log KOB/g'ı aştığını tespit etmiştir.

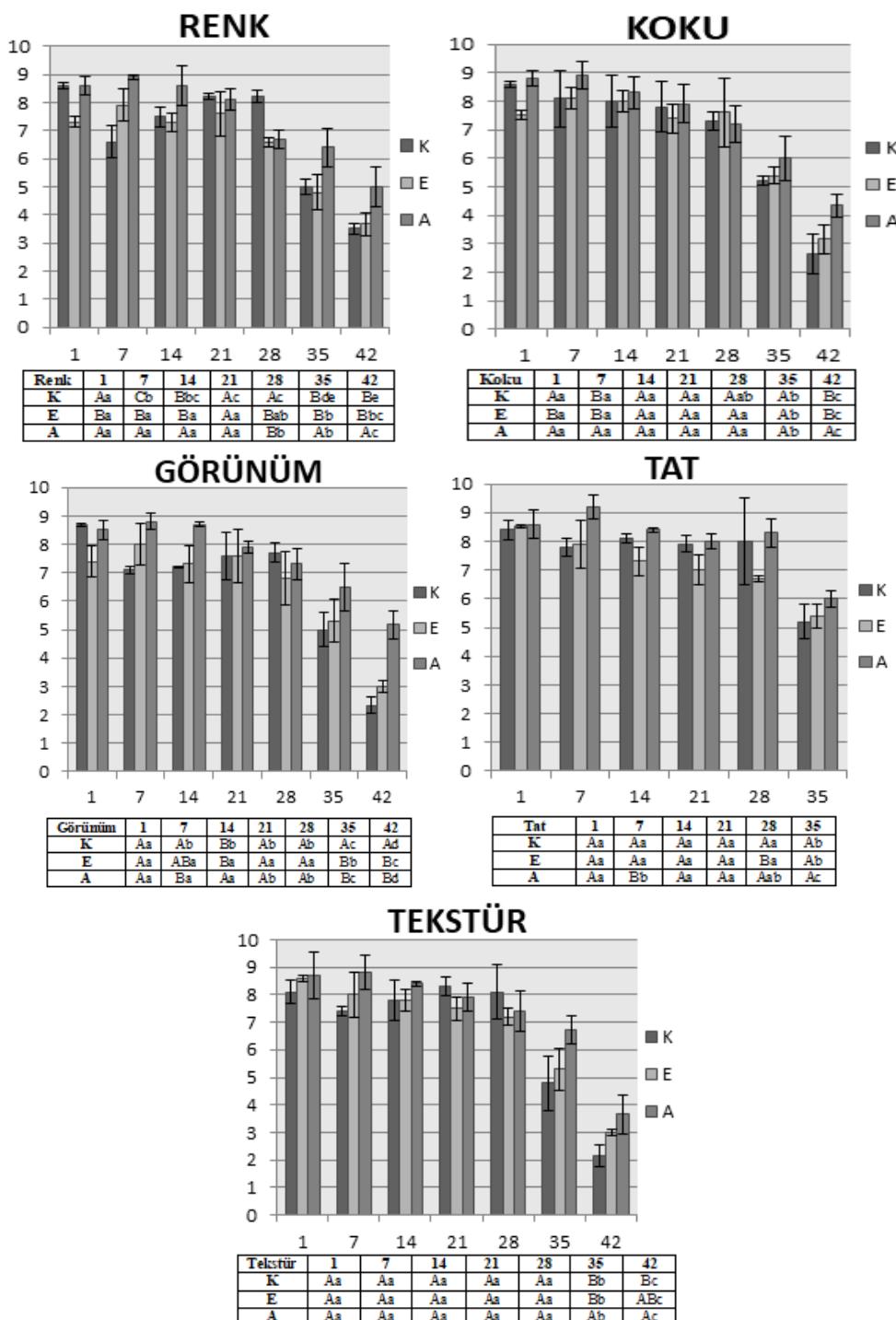


Şekil 4. Kiraz, erik, elma talaşıyla dumanlanmış Türk Somonlarının soğuk depolama süresince MK sayısındaki değişimler (log KOB/g) (Büyük harfler gruplar arasındaki farkı, küçük harfler günler arasındaki farkı göstermektedir) ($p<0.05$)

Dumanlanmış balık örneklerinin muhafazası sırasında tespit edilen MK değerleri Şekil 4'de verilmiştir. Çiğ balık etinde, MK değeri $2,4 \pm 0,03$ log KOB/g olarak tespit dilmişken dumanlanmış ürünlerin 42. gününde MK değeri K grubu için $3,1 \pm 0,28$ log KOB/g, E grubu için $2,78 \pm 0,40$ log KOB/g ve A grubu için $2,59 \pm 0,60$ log KOB/g olarak bulunmuştur. K ve E grubunda 21. güne kadar, A grubunda ise 28. güne kadar MK mikroorganizmalarında üreme olmadığı görülmüştür (Şekil 4). Ürünlerde MK sayısı bakımından depolama sonuna kadar istatistiksel olarak fark olmamıştır ($p>0,05$). Balık canlı iken kas dokusu steril kabul edilir (Aras Hisar vd.2004). Avlandıktan sonra çevre koşullarına bağlı olarak bu durum değişir. Dumanlama işlemi aroma etkisinin yanısıra konserve edici özelliği olan bir prosesidir. Dumanlama işleminde konservasyon sağlanmakta olup bu işlem tuzlama ve kurutma işlemlerini de içermektedir. Bu işlemler su aktivitesini düşürürken bakteriostatik ve bakterisitik etki göstermektedir. Dumanlanmanın böyle koruyucu etkilerine rağmen bu tür ürünlerde de kalite değişimleri olabilmektedir. Bu değişimler balığın yağ oranına, türüne, uygulanan metoda, depolama koşullarına bağlıdır (Varlık, 2004). Dumanlanmış alabalıkta da ilk zamanlar mikroorganizmalar tespit edilmemiş olup, depolamanın ilerleyen günlerinde MK'ün geliştiği görülmüştür (Şekil 4). Patır vd., (2005) akgürgen, meşe, kavak, söğüt ve çam kullanılarak tütsülenen aynalı sazan filetolarında başlangıçtaki MK sayısı 2,51 log KOB/g iken dumanlama sonrasında azalma göstermiş, depolamanın 21. gününde ise aynı düzeyde devam ettiği, gruplar arasında da farklılığın

görülmediği belirtilmiştir. Bilgin vd., (2008) çipura balığında sıcak dumanlama sonrası 35 gün boyunca 4 °C de depolanan örneklerde maya ve küf tespit edilmediği, depolamanın son günü olan 60. gündə MK sayısının $2,56 \pm 0,01$ olduğunu belirtmişlerdir. Dumanlama işleminin; ısıtma, kurutma ve tuzlama işlemlerinin entegre etkisiyle bozulma bakterileri ve patojenik bakteri faaliyetlerini azalttığı belirtilmektedir (Hagos, 2021).

Dumanlanmış Türk Somonu örneklerinin muhafazası süresince meydana gelen duyusal değişimler Şekil 5'te verilmiştir.



Şekil 5. Kiraz, erik, elma talaşıyla dumanlanmış Türk Somonlarının soğuk depolama süresince duyusal değişimleri (*Büyük harfler gruplar arasındaki farkı, küçük harfler günler arasındaki farkı göstermektedir) ($p<0.05$)

Çalışmada tüm örnek gruplarında renk puanları başlangıçta $7,3 \pm 0,41$ - $8,6 \pm 0,49$ arasında değişirken depolamanın son günü olan 42. günden K, E ve A grupları için sırasıyla $5,2 \pm 1,75$, $5,5 \pm 1,01$ ve $6,2 \pm 0,73$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 5). Depolama süresi sonunda A grubu örnekler ile K ve E grubu örnekler arasındaki renk parametresindeki değişimin önemli olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Farklı ağaç talaşlarıyla dumanlanmış örneklerin koku puanları incelendiğinde depolamanın ilk gününde K, E, A gruplarında sırasıyla $7,5 \pm 1,07$, $8,6 \pm 1,64$ ve $8,8 \pm 1,54$ bulunurken 42. günden $5,2 \pm 1,39$, $5,4 \pm 1,50$ ve $6 \pm 1,05$ olarak belirlenmiştir (Şekil 5.). Tüm gruptarda koku parametresi için 1. gün ile 42. gün arasındaki değişimin önemli ($p < 0,05$) olduğu saptanmıştır. Ayrıca depolama sonunda A grubu örnekleri ile K ve E grubu örnekleri arasındaki farkında önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 5). Dumanlama sonrası örneklerin görünüm değerleri K, E, A gruplarında sırasıyla $8,7 \pm 1,63$, $7,4 \pm 0,89$, $8,5 \pm 1,17$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 5.3). Başlangıçta gruptar arasında öünsüz farklılıklar tespit edilirken depolamanın 42. gününde K grubu dışında diğer örnek gruptar arasında değişim öünsüz bulunmuştur ($p > 0,05$). Duyusal değerlendirme sonucunda tat bakımından başlangıçta en yüksek puan sırasıyla A, E ve K grubu örneklerde elde edilmiştir (Şekil 5). Tekstür açısından depolamanın 42. gününde tüm örnek gruptar panelistlerce 4 puanın altında değerlendirilmiştir. Tüm örnek gruptarında tekstürde başlangıç ve depolama sonundaki değişimin önemli ($p < 0,05$) olduğu, depolama sonunda ise K ve E grubu örnekler ile A ve E grubu örnekler arasındaki değişim ise öünsüz ($p > 0,05$) olduğu saptanmıştır (Şekil 5).

Panelistlerce değerlendirilen tüm örnek gruptar içinde A grubu örneklerin tüm duysal değerlendirmeye esas parametreler yönüyle en yüksek puanları aldığı gözlenmiştir.

Mutlu ve Bilgin (2016), meşe ağıacı kullanılarak sıcak dumanlanan alabalıklar (*O. mykiss*) ile yaptıkları çalışmada renk, görünüm, koku ve tekstür parametrelerinin depolama süresince azalma gösterdiği, ancak 28. günden mikrobiyolojik sınır değerlerin aşılması nedeniyle panelistlere tadım yaptırılmadığı belirlenmiştir. Doğan ve İzci (2016), herhangi bir kaplama uygulamadığı dumanlanmış gökkuşağı alabalığı filetolarında 42. gün yapılan duysal analizler sonucunda tüketilemez düzeye ulaşıldığını belirtmiştir.

Acar (2021), Atlantik somon (*Salmo salar*) filetolarında meşe, ceviz, elma, kiraz talaşları ve kurutulmuş kekik, ihlamur, biberiye ve defne bitkileri ile dumanlama sonucu örneklerin duysal özelliklerinin tüketici beğenisine etkisi üzerine yaptıkları araştırma sonucunda; genel beğeni puanını en yüksek alan gruptar sırasıyla ceviz, elma+ihlamur ve ceviz+defne somon örneklerinin olduğu, en az beğenilen kiraz+biberiye dumanlanmış ürünlerinin olduğu bildirilmiştir. Türk Somonu ile yapılan çalışmamızda en yüksek beğeniyi elma grubu almıştır. Iacumin vd. (2017), soğuk dumanlanarak vakumlanmış gökkuşağı alabalığı örneklerinin 60 günlük raf ömrü duysal olarak desteklenmiş olsa bile raf ömrü için 45 günün ticari olarak daha uygun olacağını ifade etmişlerdir. Çağlak ve Karslı (2020) havuz balığına (*Carassius carassius*) dumanlama işlemi uyguladıktan sonra vakum paketleyerek muhafaza ($+4 \pm 1^{\circ}\text{C}$) etmişlerdir. Görünüş, doku, renk ve koku kriterlerinin değerlendirildiği duysal analiz sonucunda 90. güne kadar kalitesini koruduğu belirtilmiştir. Ayrıca diğer kalite parametreleriyle beraber değerlendirildiğinde ise 75 gün buz dolabı koşullarında muhafaza edilebileceği vurgulanmıştır.

Vakum paketlenmiş sıcak tütsülenmiş gökkuşağı alabalıklarının duysal özellikleri FAO Kodeks Standartlarına (1999) göre değerlendirildiğinde 5 puan minimum kabul edilebilirlik skoru olarak belirlenmiştir. Bu bağlamda çalışmada duysal değerlendirme sonucunda K ve E örnekleri 42. günden genel olarak 5 puan altında alırken A grubu örnekler ise genel olarak 5'in üzerinde puanlar almış ve çalışmanın en beğenilen örnek grubu olmuştur.

4. SONUÇ

Son yıllarda Türk Somonu olarak BSGM tarafından tescillenen gökkuşağı alabalığının üretimi, tüketimi ve pazarlanması her geçen gün artmaktadır. Rengi, lezzeti, et yapısı ve besin içeriği açısından kendi kategorisindeki diğer somon balıklarıyla rekabetçi düzeye gelmiştir. Dünyada ve ülkemizde bu bağlamda ilgi odağı olmuştur. Ülkemizde Türk Somonunun farklı sunum ve lezzetlerle değerlendirilmesi, su ürünleri tüketim alışkanlığını olumlu yönde etkileyecektir. Bu kapsamında yaptığımız çalışmada, Karadeniz'de yetiştirilen Türk Somonunun farklı talaşlar kullanılarak dumanlaması sonrasında ürünlerin mikrobiyolojik ve duysal özellikleri incelenmiştir. Elde edilen

sonuçlara göre; tüm grupların 42. günde mikrobiyolojik açıdan sınır değerlerini aştiği tespit edilmiş, elma ağacı talaşı ile dumanlanmış ürünlerin lezzet, tekstür, koku, renk ve görünüm açısından diğer gruplara göre panelistlerce daha çok beğenildiği gözlenmiştir. Isparta elma, kiraz ve erik yetiştiriciliği bakımından ülkemizin onde gelen merkezlerinden biridir. Bu yönyle son zamanlarda popüleritesi artan Türk Somonu farklı işleme tekniklerinin uygulanabilirliği yönüyle değerlendirildiğinde, tüketiciye yeni bir lezzet sunulması yanında katma değerinin de artırılabileceği ve ülke ekonomisine katkı sağlanabileceği düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma 15-16 Eylül 2022 tarihinde düzenlenen, “6. Ulusal Alabalık Sempozyumunda (Uluslararası Katılımlı)” sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

FİNANS

Bu çalışmanın yürütülmesinde herhangi bir finans desteği alınmamıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar, bu çalışmayı etkileyebilecek finansal çıkarlar veya kişisel ilişkiler olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Kurgu: SB, Lİ; Metodoloji: SB; Deneyin gerçekleştirilmesi: SB, Lİ, GS, FÜ; Veri analizi: GS, FÜ; Makale yazımı: GS, Denetleme: SB, Lİ. Tüm yazarlar nihai taslağı onaylamıştır.

ETİK ONAY BEYANI

Bu çalışmada deney hayvanları kullanılmaması nedeniyle Yerel Etik Kurul Onayı alınmamıştır.

VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Bu çalışmada kullanılan veriler talep üzerine ilgili yazarlardan temin edilebilir.

KAYNAKLAR

- Acar, İ. (2021). Tütsüleme tekniğinde kullanılan farklı katkı maddelerinin duyasal özelliklere ve tüketici beğenisi etkisi: Somon fileto örneği [Master's thesis, Kocaeli Üniversitesi].
- Aras Hisar, Ş., Hisar, O., & Yanık, T. (2004). Balıklarda mikrobiyolojik, enzimatik ve kimyasal bozulmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35(3-4), 261-265. Retrieved from <https://dergipark.org.tr/tr/pub/ataunizfd/issue/2938/40679>
- Arvanitoyannis, I. S., & Kotsanopoulos, K. V. (2012). Smoking of fish and seafood: history, methods and effects on physical, nutritional and microbiological properties. *Food and bioprocess technology*, 5(3), 831-853. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0690-8>
- Ashie, I. N. A., Smith, J. P., Simpson, B. K., & Haard, N. F. (1996). Spoilage and shelf-life extension of fresh fish and shellfish. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 36(1-2), 87-121. <https://doi.org/10.1080/10408399609527720>
- Bilgin, Ş., Ünlüsüyin, M., Izci, L., & Günlü, A. (2008). The determination of the shelf life and some nutritional components of gilthead seabream (*Sparus aurata* L., 1758) after cold and hot smoking. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 32(1), 49-56. <https://journals.tubitak.gov.tr/veterinary/vol32/iss1/9>
- Çağlak, E., & Karslı, B. (2020). Sıcak Dumanlama İşlemi Yapılmış Havuz Balığının (*Carassius carassius*, Linnaeus 1758) Bazi Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 1(2), 34-44.
- Doğan, G., & İzci, L. (2017). Effects on quality properties of smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets of chitosan films enriched with essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), e12757. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12757>
- Emre, Y., Sayın, C., Kişin, F., & Emre, N.. (2008). Türkiye'de ağ kafeste alabalık yetiştiriciliği, karşılaşılan sorunlar ve çözüm önerileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 4(1), 65-73. Retrieved from

- <https://dergipark.org.tr/tr/pub/egirdir/issue/23066/246496>
- Erkan, N. (2012). The effect of thyme and garlic oil on the preservation of vacuum-packaged hot smoked rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1246-1254. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0412-7>
- FAO Kodeks Standartları, (1999). Codex Standards for Fish and Fishery Product, 'Guidelines for the Sensory Evaluation of Fish and Shellfish in Laboratories', CAC-GL 31-1999, FAO/WHO Codex Alimentarius, Rome.
- FAO, (2022). Aquaculture market in the Black Sea: country profiles. General Fisheries Commission for the Mediterranean. <https://doi.org/10.4060/cb8551en>
- Gülyavuz, H. & Ünlüsayın, M. (1999). Su Ürünleri İşleme Teknolojisi. Şahin Matbaası. Ders Kitabı. 366 s. Ankara.
- Hagos, L. (2021). Smoking Methods and Microbiological Characteristics of Smoked Fishes: A Review. *Journal of Food and Nutrition Sciences*, 9(5), 113-116. <https://doi.org/10.11648/j.jfns.20210905.11>
- Harrigan, W. F., & McCance, M. E. (1976). Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press Inc.
- Heinitz, M. L., & Johnson, J. M. (1998). The incidence of *Listeria* spp., *Salmonella* spp., and *Clostridium botulinum* in smoked fish and shellfish. *Journal of food protection*, 61(3), 318-323. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-61.3.318>
- ICMSF (1986) International commission on microbiological specifications for foods. Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF (Ed.), Microorganisms in foods. Sampling for microbiological analysis: Principles and scientific applications, vol 2, 2nd edn. University of Toronto Press, Toronto, Canada.
- Iacumin, L., Tirloni, E., Manzano, M., & Comi, G. (2017). Shelf-life evaluation of sliced cold-smoked rainbow trout (*O. mykiss*) under vacuum (PV) and modified atmosphere packaging (MAP). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 17(6), 1279-1285. https://doi.org/10.4194/1303-2712-v17_6_21
- Kaba, N., Özer, Ö., & Söyleyen, B. (2009, Temmuz 01-04). Dumanlama İşleminin Balık Kalitesine Ve Raf Ömrüne Etkisi, XV. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu, Rize, Türkiye.
- Keskin, İ., Köstekli, B., & Erdem, M. E. (2022). Orta Karadeniz Bölgesinde Satılan Türk Somonu İle Atlantik Somonunun Besin İçeriği ve Yağ Asidi Kompozisyonu Yönünden Karşılaştırılması. *Akademik Et ve Süt Kurumu Dergisi*, 3, 26-32. <https://dergipark.org.tr/en/pub/aeskrd/issue/68999/1067065>
- Kurtcan, Ü. & Gönül M.(1987). Gıdaların duyusal değerlendirilmesinde puanlama metodu. *Ege Univ Müh Fak Derg*, 5, 137-146.
- Mutlu, A., & Bilgin, Ş. (2016). Zeytin (*Olea europaea* L.) yaprağı ve yağı gülü (*Rosa damascena* Mill.) ekstraktlarının buz dolabı koşullarında (4 ± 1 C) depolanan sıcak dumanlanmış alabalık (*O. mykiss*) filetolarının raf ömrüne etkisi. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 2(1), 19-29. <https://doi.org/10.17216/LimnoFish-5000157469>
- Öğretmen, Ö. Y. (2023). Investigation of Antibiotic Residue, Nitrofuran Compounds, Microbial Properties and Heavy Metal Amount in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 1-13.
- Özal, E (2021, Kasım 05-06). Türk Somonunda İsim Karmaşası. Proceedings Book of 3rd International Congress on Agricultural and Food Ethics, 327-332.
- Özkaya, O., (1995). Alabalığın Raf Ömrü Üzerine Tütsüleme Yöntemlerinin Etkisi [Yüksek lisans Tezi, Ankara Üniversitesi].
- Öztürk, D. K. (2022). Element concentrations of cultured fish in the Black Sea: selenium-mercury balance and the risk assessments for consumer health. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(58), 87998-88007.
- Patır, B., Duman, M., & Ihlak, O. İ. (2005). Farklı Ağaç Türleriyle Tütsülenen Aynalı Sazan (*Cyprinus Carpio* L.) Filetolarının Mikrobiyolojik, Kimyasal ve Duyusal Kalitesi. *Veteriner Bilimleri Dergisi. Eurasian Journal Of Veterinary Sciences*, 21(1-2), 51-60.
- Sikorski, Z. E. (2016). Smoked foods: principles and production. In B. Caballero, P. M. Finglas, & F.

- Toldrá (Eds.), Encyclopedia of Food and Health, (pp. 1-5). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00630-9>
- Suñen, E., Aristimuño, C., & Fernandez-Galian, B. (2003). Activity of smoke wood condensates against *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in vacuum-packaged, cold-smoked rainbow trout stored at 4 °C. *Food Research International*, 36(2), 111-116. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(02\)00115-1](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00115-1)
- Sürengil, G., & Kılınç, B. (2011). Gıda-Ambalaj Sektöründe Nanoteknolojik Uygulamalar ve Su Ürünleri Açısından Önemi. *Journal of FisheriesSciences. com*, 5(4), 317-325. <https://doi.org/10.3153/JFSCOM.2011036>
- Tavares, J., Martins, A., Fidalgo, L. G., Lima, V., Amaral, R. A., Pinto, C. A., ... & Saraiva, J. A. (2021). Fresh fish degradation and advances in preservation using physical emerging technologies. *Foods*, 10(4), 780. <https://doi.org/10.3390/foods10040780>
- TÜİK Türkiye İstatistik Kurumu (2022). Su Ürünleri 2021, Kültür Balıkları Üretim Miktarı. <https://www.tuik.gov.tr>
- Varlık, C., Erkan, N., Özden, Ö., Mol, S., & Baygar, T., (2004). Su Ürünleri İşleme Teknoloji, İstanbul Üni Yayın No:4465, Su Ürünleri Fak No: 7, Edt: Varlık, C., ISBN: 975-404-715-4.

Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Staphylococcus warneri*'nin Teşhis ve Histopatolojisi**Identification and Histopathology of *Staphylococcus warneri* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)**

Öznur Diler^{1,*}, Hasan Emre Yılmaz², İfakat Tülay Çağatay³, Mevlüt Naziroğlu¹, Öznur Özil¹, Şeydanur Kan¹

¹Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Isparta

²Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya, Türkiye

³Akdeniz Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Temel Bilimler Bölümü, Antalya

* Sorumlu Yazar: oznurdiler@isparta.edu.tr

Received: 03.04.2023

Accepted: 11.07.2023

Published: 01.09.2023

How to Cite: Diler, Ö., Yılmaz, H. E., Çağatay İ. T., Naziroğlu, M., Özil, Ö., & Kan, Ş. (2023). Gökkuşağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Staphylococcus warneri*'nin teşhis ve histopatolojisi. *Acta Aquatica Turcica*, 19(3), 277-288. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.1276536>

Özet: Bu çalışma, Ege ve Akdeniz bölgelerinde bulunan gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) çiftliklerinde Mart 2022 tarihinde mortaliteye neden olan hastalığın tanımlanması amacıyla yürütülmüştür. Enfekte alabalıkların dış incelemelerinde gözlerde bilateral ekzoftalmus, alt çenede kanama, dropsi, internal olarak karaciğerde anemi, sindirim sisteminde sarı eksüdat birikimi, yağ dokusunda ve anüs bölgesinde kanama, dalakta büyümeye görüldü. Enfekte balıkların karaciğer ve ön böbreğinden Gram-pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus warneri* izole edildi. *S. warneri*, morfolojik özellikleri, bazı geleneksel testler ve 16S rRNA ve *sodA* gen bölgeleri kullanılarak moleküler genetik yöntemler yardımıyla teşhis edildi. Histopatolojik incelemelerde enfekte balıkların karaciğer dokusunda infiltrasyon, dalak dokusunda hiperemi ve böbrek tübüllü epitelinde nekrotik değişiklikler saptandı. Disk difüzyon yöntemine göre *S. warneri* izolatının en duyarlı olduğu antibiyotığın doxycycline olduğu belirlendi. Gökkuşağı alabalıklarında yapılan daha önceki çalışmalarla *S. warneri* türü izole edilmekle birlikte bu çalışma ile ilk kez *S. warneri* türünün organlardaki histopatolojik etkileri belirlenmiştir.

Abstract: This study was conducted to identify the disease that caused mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in the Aegean and Mediterranean regions in March 2022. External examination of infected trout revealed bilateral exophthalmos, hemorrhage in the lower jaw, dropsy, anemia in the liver, yellow exudate accumulation in the digestive system, hemorrhage in the adipose tissue and anus area, and spleen enlargement. A Gram-positive bacterium, *Staphylococcus warneri*, was isolated from infected fish's liver and anterior kidney. *S. warneri* was identified using morphological features, some conventional biochemical tests, and molecular genetic methods utilizing the 16S rRNA and *sodA* gene regions. Histopathological examination showed infiltration in the liver tissue, hyperemia in the spleen tissue, and necrotic changes in the kidney tubular epithelium of infected fish. According to the disk diffusion method, doxycycline was determined to be the most sensitive antibiotic against the *S. warneri* isolate. Although *S. warneri* was isolated in previous studies on rainbow trout, its histopathological effects on organs were determined for the first time in this study.

Anahtar kelimeler

- Gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)
- *Staphylococcus warneri*
- 16 S rRNA
- *sodA* geni
- Histopatoloji

- Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)
- *Staphylococcus warneri*
- 16 S rRNA
- *sodA* gene
- Histopathology

1. GİRİŞ

Balıkların yaşadığı su ortamı ve sediment mikrobiyotası deri, solungaç ve sindirim sistemindeki mikrobiyal çeşitliliğin ve miktarın belirlenmesinde etkin rol oynamaktadır. Bu ortamlarda bulunan fırsatçı patojenler ise balıkların bağılıklık sistemlerinin zayıflamasıyla birlikte yüksek ölüm oranları ile dikkat çeken hastalıklara neden olurlar (Korun vd., 2019; Atanasoff & Urku, 2022). Bu patojenlerden biri olan, *Staphylococcus warneri*, sağlıklı balıkların derisindeki mikrobiyotanın bir



bileşeni olarak bulunmaktadır. Gram pozitif bir bakteri olan *S. warneri*, ABD' nin New Mexico eyaletinde bulunan bir kuluçkahane'de yetiştirilen sağlıklı gökkuşağı alabalığının deri mukusundan izole edilmiştir (Musharrafieh, 2014). İspanya' nın kuzeybatısında yapılan bir diğer çalışmada enfekte gökkuşağı alabalıklarının yüzgeçlerinde ülserli deri lezyonları ve ekzofthalmus dikkati çekmiş, inceleme sonucunda *S. warneri* türü tanımlanmıştır (Gil vd., 2000). Metin vd., (2014) yaptıkları çalışmada enfekte anaç gökkuşağı alabalıklarında letarji yanı sıra göz, çene, ağız ve anüste hemoraji gibi belirtiler tespit etmişler ve inceleme sonucunda *S. warneri* enfeksiyonunu bildirmiştirlerdir. Bir diğer çalışmada, Sibirya mersin balıklarında (*Acipenser baerii*) ve hibrit mersin balıklarında (*Huso huso x Acipenser baerii*), *S. warneri* ve *S. putrefaciens* koenfeksiyon vakası bildirilmiştir (Rusev vd., 2016). Çin' de ise *S. warneri* enfeksiyonunun neden olduğu bir salgında *C. guichnoti* balık türünde çok sayıda ölüm gözlenmiştir (Xiao vd., 2022). Ayrıca zoonotik karakterde olan *S. warneri*' nin insanlarda menenjit, endokardit ve septik artrite neden olduğu bildirilmiştir (Wood, 1992).

Bu çalışmanın amacı Ege ve Akdeniz Bölgesinde yer alan farklı alabalık işletmelerinde mortaliteye neden olan hastalık etkeninin tespiti, identifikasiyonu ve izole edilen etkenin dokulara verdiği hasarı tespit etmektir.

2. MATERİYAL VE YÖNTEM

2.1. Hasta balıkların örneklenmesi

Çalışmada, Ege (n=10) ve Akdeniz (n=15) bölgesinde yer alan iki farklı ticari alabalık işletmesinden ortalama ağırlığı 7,5-10 g olan toplam 25 adet balık temin edilmiştir ve Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları laboratuvarına canlı olarak nakledilmiştir. Örneklemeler, ilgili işletmelerden hastalık çıkışının bildirildiği Mart (2022) ayında yapılmıştır. Örneklemenin yapıldığı tarihte, yoğun yağmur yağışı olduğu belirtilmiş ve tesislerdeki su sıcaklığı 11°C, oksijen 10,8 ppm, pH 7,3 olarak ölçülmüştür.

Hastalık belirtisi gösteren yeni ölmüş balıkların dış yüzeyleri makroskopik olarak incelenmiş ve mikrobiyolojik incelemeler için deri, solungaç ve yüzgeç kısımlarından örnekler alınmıştır.

2.2. Patojenin izolasyon ve identifikasiyonu

Patojenin izolasyonu amacıyla 25 adet balığın karaciğer, dalak ve ön böbreklerinden Tryptic Soy Agar (TSA) besiyerlerine ekimler yapılmış ve petriler 25°C' de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bakteriler saflaştırılmış ve geleneksel teknikler (Gram boyama, katalaz ve sitokrom oksidaz testleri, hareket testi (asılı damla yöntemiyle), O/F testi (Hugh-Leifson vasatı) kullanılarak identifiye edilmiştir (Bergey & Holt, 1994; Gil vd., 2000).

2.3. Bakteriyal DNA izolasyonu ve PZR protokolü

Bakteri kültürlerinden tek koloniler alınarak 50 ml' lik nutrient sıvı besiyerinde (NB) (Merk, Almanya) 37°C' de 1 gece inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından suşlar 2000 rpm'de 5 dk santrifüjlenerek çöktürülmüştür. Elde edilen peletteki bakteriler PBS (Merk, Almanya) tamponu ile 2 kez yıkandıktan sonra bu örnekler DNA izolasyonu için kullanılmıştır. DNA izolasyonu ticari bir kit olan DNeasy Blood&Tissue Kiti (Qiagen, USA) ile gerçekleştirilmiştir. Bakteriyel DNA izolasyonu bu kitin protokolüne göre yapılmıştır. İzole edilen DNA' lar %1' lik agaroz jelde yürütülerek DNA kalitesi kontrol edilmiştir.

Bakterilerin moleküller tanımlanabilmesi için üç farklı primer kullanılmıştır. İlk olarak 16S rRNA gen bölgesini çoğaltmak için 16S rRNA evrensel primeri 63f (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC-3') ve 1387r (5'-GGCGGGWGTGTACAAGGC-3') kullanılmıştır (Marchseive vd., 1998). *S. warneri* türlerini ayırt edebilmek ve doğrulayabilmek için türe özgü sodA gen bölgesini (superoxide dismutase A) çoğaltırmak için iki ayrı primer daha kullanılmıştır (Kim vd., 2018). Bunlar *S. pasteuri* için PA237F (5'-GCTAATTAGACAGTGTACCTTCTG-3') ve PA237R (5'-GCCCGTTATTTACTACTAACCA-3') primer çifti, *S. warneri* için SW110F (5'-GTAACAAAATTAAATGCAGCTG-3') ve SW110R (5'-TCTTACTGCAGTTGAATATCAGA-3') primer çiftidir.

16S rRNA gen bölgesinin Polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile çoğaltıması için 25 µL hacimde 1xPCR tamponu, 1.5 mM MgCl₂, 1 pmol her bir primer, 0.1 mM dNTP karışımı ve 0.1 U Taq polimeraz (Fermantas, Almanya) enzimi içeren reaksiyon karışımı kullanılmıştır. PZR koşulları 95°C' de 5 dk başlangıç denatürasyonu ardından 30 döngü boyunca 95°C' de 1 dk, 55°C' de 1 dk, 72°C' de

1,5 dk ve son olarak 72°C' de 10 dk son uzama şeklinde ayarlanmıştır. *SodA* gen bölgelerini PZR ile çoğaltmak için hazırlanan karışımlar 16S rRNA gen bölgesinin çoğaltılması koşullarıyla aynı olup için termal döngü şartları Kim vd. (2018)' e göre belirlenmiştir. Elde edilen tüm PZR ürünleri %1,5' luk agaroz (Amplichem, Almanya) jelde yürütülerek görüntülenmiştir. Çoğaltılan 16S gen bölgesi Makrogen (Hollanda) firmasından hizmet alımı yoluyla çift yönlü olarak dizilenmiştir. Diziler gen bankasına OR144346 ve OR144247 numaraları ile kaydedilmiştir.

16S rRNA gen bölgesi ile ilgili elde edilen PZR-dizileri ve gen bankasında yer alan diğer 16S RNA gen dizileri ile karşılaştırılma yapılmıştır. 16S rRNA gen bölgesi dizileme sonucunda elde edilen kromatogramlar Codoncode Aligner 6.0.2 (CodonCode Corporation) programında açılarak piklerin kalitesi kontrol edilmiştir. Konsensus dizileri alınarak Genbank veri tabanında BLASTn (Altschul vd., 1997) algoritması kullanılarak veri tabanındaki dizilerle benzerliği kontrol edilmiştir.

Genbank veri tabanından çoğaltılan gen bölgesinin uzunluğuna uygun dizilerden rastgele seçilerek filogenetik ağaç inşası gerçekleştirilmiştir. Filogenetik ağaç inşası için MEGA X (Kumar vd., 2018) programında ClustalW algoritması kullanılarak hizalanınan dizilerin mutasyon modelinin belirlenmesi için jModelTest (Posada, 2008) programı kullanılmıştır. Filogenetik ağaç inşası Mr. Bayes v3.2 (Ronquist vd., 2012) programı kullanılmıştır. Markov Chain Monte Carlo (MCMC) analizi 4 zincir üzerinden gerçekleştirilmiş ve split frequency 0.01' in altına düşene kadar 10 milyon jenerasyon boyunca analiz gerçekleştirilmişdir. Her 1000 jenerasyonda bir örnekleme yapılarak elde edilen ağaçların %25' i burn-in yapılarak uzaklaştırılmıştır. Analiz sonucunda elde edilen konsensus ağaç Figtree v1.4.2 (Rambaut, 2014) programında düzenlenmiştir.

2.4. Antimikrobiyal duyarlılık testi

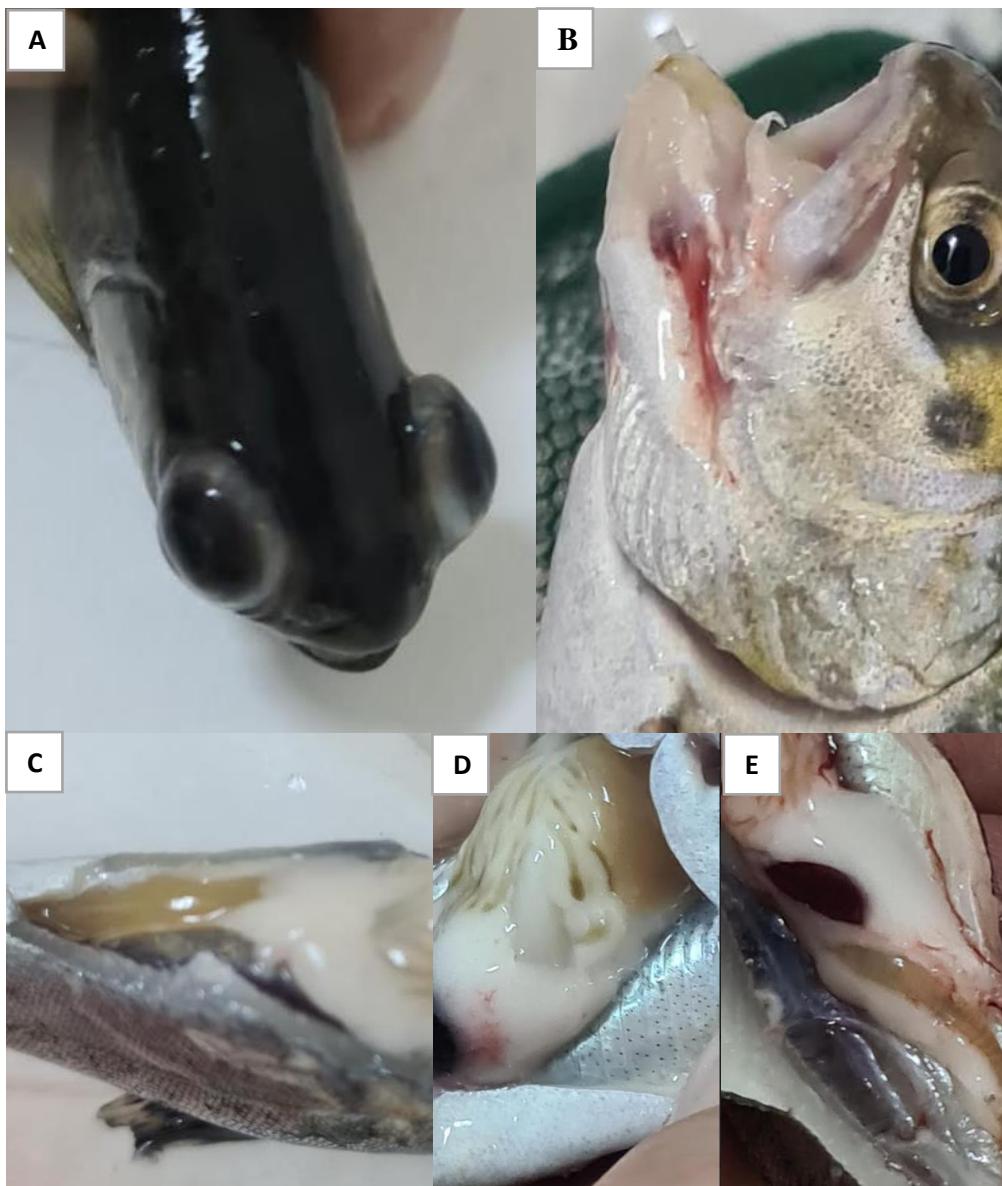
Antibiyotik duyarlılık testi Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile Mueller Hinton Agar besiyerinde yapılmıştır. Bu teste oxolinic acid, gentamicin, penicillin, oxacillin, florfenicol, apramycin, ofloxacin, enrofloxacin, streptomycin, amoxicillin, colistin, cefoperazone, oxytetracycline, cephalothin, norfloxacin, tylosin, tetracycline, sulphamethoxazole, doxycycline, kanamycin, spectinomycin, pristinamycin, nalidixic acid, cefurocime, lincomycin, chloramphenicol, ampicillin, clindamycin, flumequine, nitrofurantoin, vancomycin, erythromycin ve ceftriaxone antibiyotikleri kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyeri üzerine yerleştirilen antibiyotik diskler etrafındaki zon çapları ölçülerek NCCLS kriterlerine göre her bir antibiyotik için duyarlı veya dirençli olarak belirlenmiştir (Weinstein & Lewis, 2020).

2.5. Histopatolojik incelemeler

Ortalama ağırlığı 0,75-10 gr olan toplam 10 adet balık disekte edilmiş ve karaciğer, böbrek ve dalak dokuları %10'luk formaldehit solüsyonu içerisinde tespit edilmiştir. Tespit edilen doku örnekleri rutin doku takip işleminden geçirilerek parafine gömülüdür. Dokulardan mikrotom ile 5 µm' lik kesitler alınmıştır. Daha sonra alınan doku kesitleri hematoksilen ve eozin (H&E) ile boyanmış ve ışık mikroskopu (Olympus CX21, Olympus Corporation, Tokyo, Japonya) altında incelenerek değerlendirilmiştir (Bancroft & Stevens, 1990).

3. BULGULAR

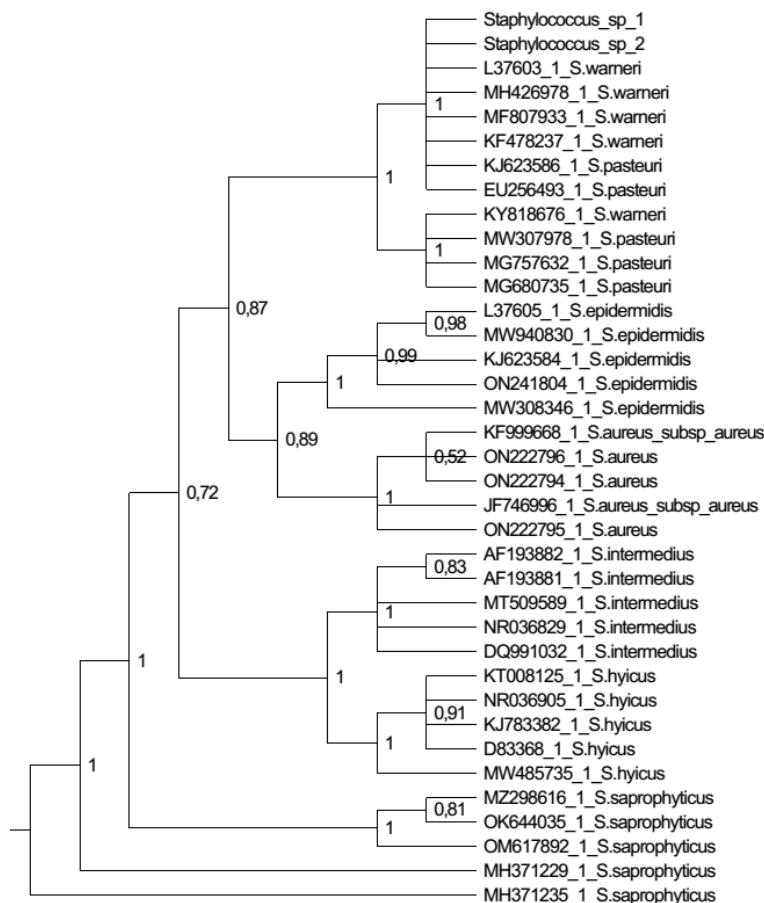
İşletmelerden alınan enfekte yavru gökkuşağı alabalıklarında yapılan dış incelemede; gözlerde bilateral ekzoftalmus, alt çenede kanama, dropsi, iç organlarda anemi (karaciğer ve böbrek), sindirim kanalında sarı yeşil sıvı, yağ dokuda hemoraji, anüs bölgesinde kanama, dalak dokusunda büyümeye dikkat çekmiştir (Şekil 1). Aseptik koşullar altında hasta balıkların ön böbrek, karaciğer ve dalak dokularından TSA besiyerine yapılan bakteriyel ekim sonucunda 1,5-2 milimetre çapında küçük beyaz koloniler görülmüştür. Elde edilen izolatların Gram boyama sonucunda Gram pozitif, stafilokok morfolojisinde olduğu görülmüş olup oksidazı negatif, katalazı pozitif, O/F testi ise fermentatif olarak tespit edilmiştir.



Şekil 1. A-Yavru balıklarda gözlerde ekzoftalmus, B-alt çenede kanama, C-sindirim sisteminde sarı eksudat, D-anemik solgun karaciğer, E-yağ dokuda kanamalar, dalakta büyümeye

Alabalık örneklerinden izole edilen bakteri suşunun bazı biyokimyasal testlere ilave moleküller biyolojik tanımlama için 16S rRNA ve türe özgü teşhis için seçilen *sodA* gen bölgesini kullanılarak PZR analizleri yapılmıştır. Toplamda 88 mutasyon modeli üzerinden Bayesian Information Criteria (BIC) ile yapılan değerlendirme sonucunda mutasyon modeli JC olarak belirlenmiştir. Filogenetik analizlerdeki gen dizilerinin birbirine benzerlik oranı %98 ile *S. warneri* (Şekil 2) bulunmuştur.

Filogenetik analizlerdeki gen dizilerinin birbirine benzerlik oranı %98 yüksek olmasından dolayı daha tür özgü olan PA237F/ PA237R ve SW110F/ SW110R primerleri denenmiştir. Bu türe özgü belirleyici PZR analizlerinin sonucunda çalışılan örneğin *S. warneri* olduğu doğrulanmıştır (Şekil 3). Şekil 3' de agaroz jelde görülen bantlar *S. warneri* pozitif PZR gen bantlarını göstermektedir.

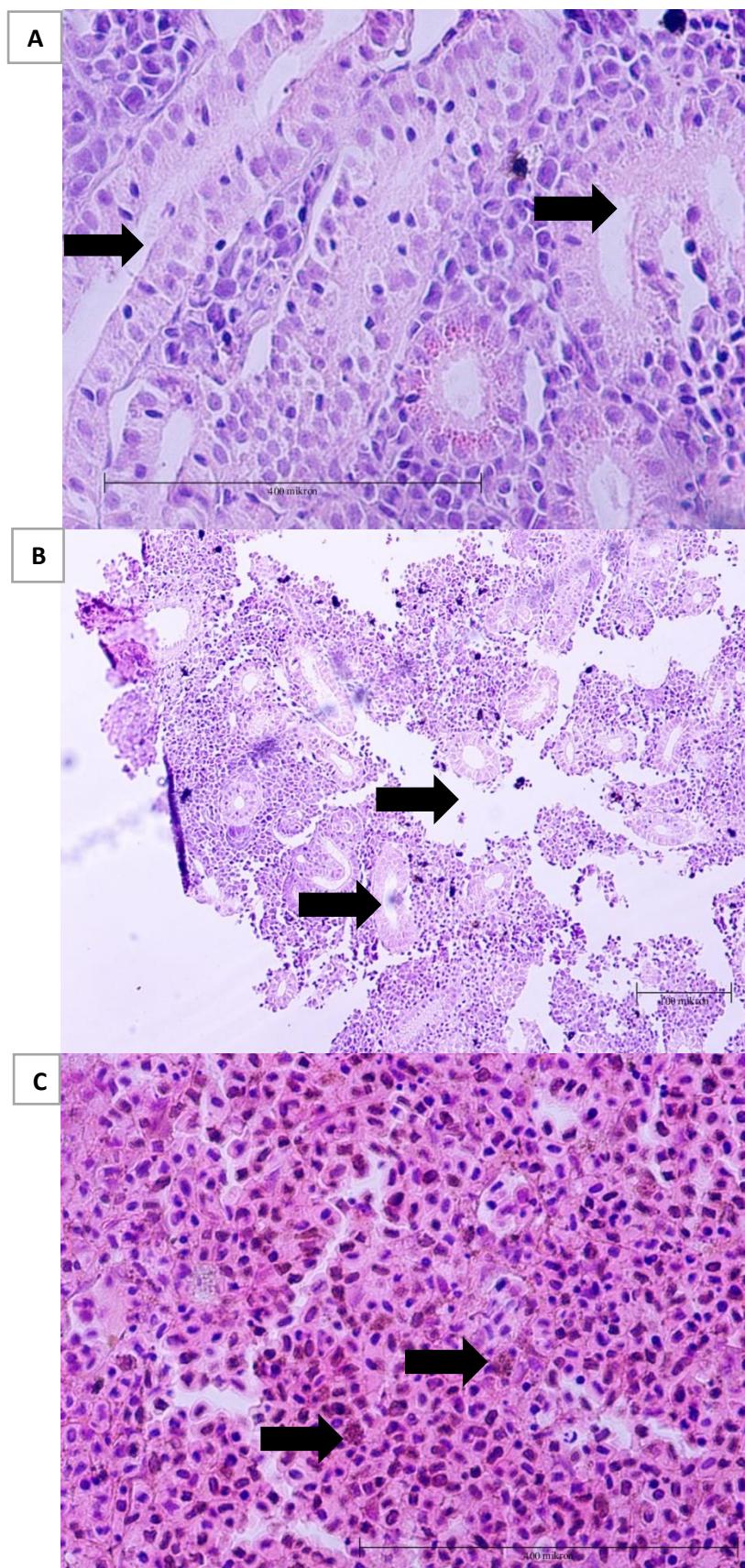


Şekil 2. 16S rRNA gen bölgesi kullanılarak çizilen filogenetik ağaç

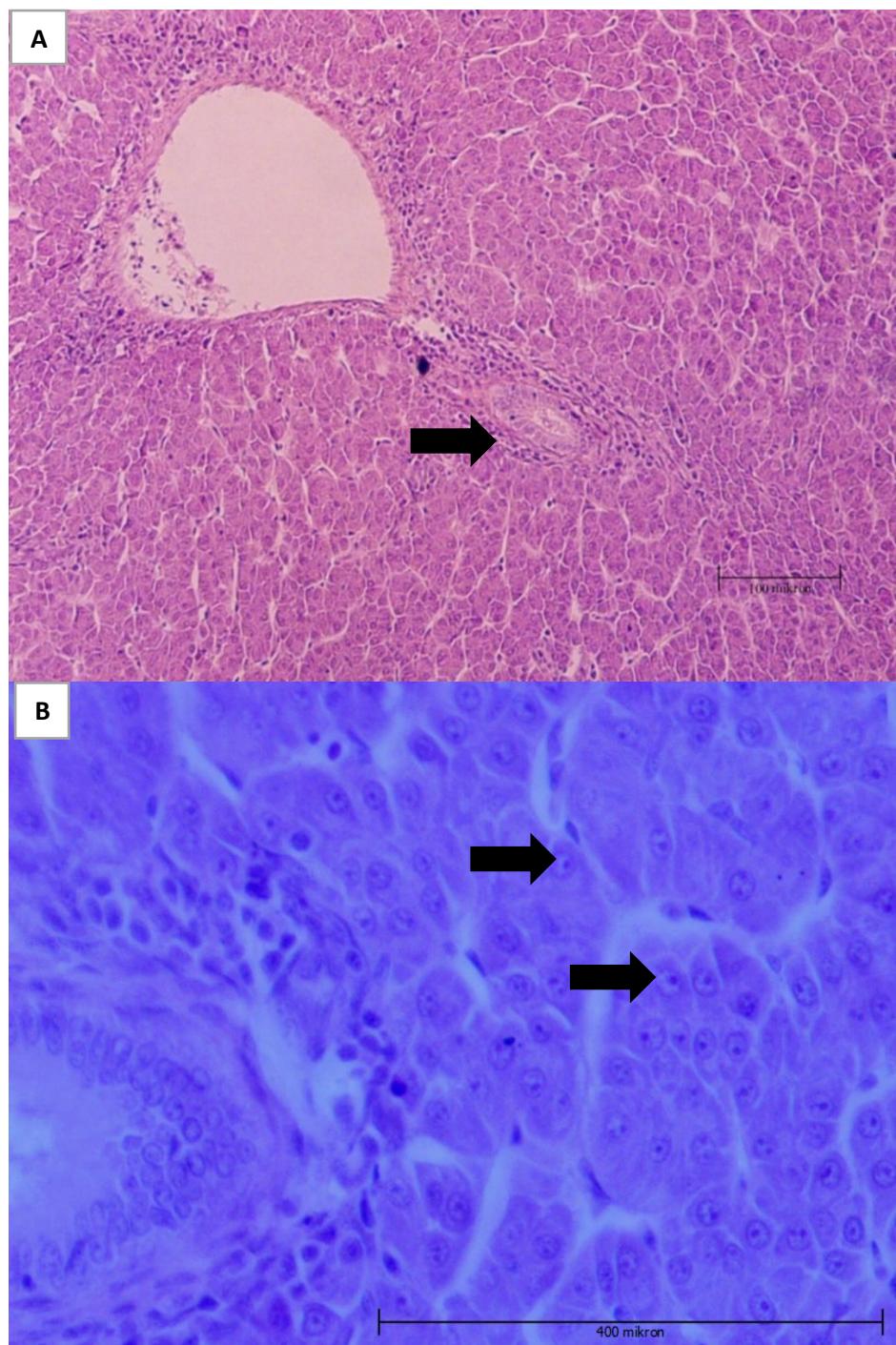


Şekil 3. Tür spesifik primerler kullanılarak elde edilen PZR ürünleri (Moleküler Markır; MM, 100 bp DNA markır; 1-4. *S. pasteurii* spesifik primeri (PA237) PZR ürünleri; 5. *S. pasteurii* spesifik primeri için negatif kontrol; 6-9. *S. warneri* spesifik primeri (SW110) PZR ürünleri; 10. *S. warneri* spesifik primeri için negatif kontrol

Histopatolojik incelemelerde, enfekte balıkların böbrek dokusunda tübillerde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler, dalak dokusunda; kırmızı pulpa ve beyaz pulpa sınırları kayıp ve splenitis, karaciğer dokusunda vena centralis çevresinde yanmış infiltrasyon ve hepatositlerde dejenerasyon görülmüştür (Şekil 4 ve 5).



Şekil 4. A-B-Böbrek tübül hücrelerinde dejeneratif ve nekrotik değişiklikler (oklar) H&E 400-100 μ m,
C- Dalakta yangı hücreleri (oklar) H&E 400 μ m.



Şekil 5. A- Karaciğerde central vena evresinde yanısal infiltrasyon (ok) H&E 100 μm , B- Hepatositlerde dejenerasyon (oklar) H&E 400 μm .

Antibiyogram testi sonucunda izole edilen etkenin gentamicin, florfenicol, apramycin, ofloxacin, enrofloxacin, streptomycin, cefoperazone, cephalothin, norfloxacin, sulphamethoxazole, doxycycline, kanamycin, pristinamycin, cefurocime, chloramphenicol, flumequine, vancomycin ve ceftriaxone antibiyotiklerine duyarlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. *S. warneri* suşunun antibiyogram test sonuçları

Antibiyotik	Çap(mm)	Direnç/Duyarlılık
Oxolinic Acid	15	I
Gentamicin	21	S
Penicillin	11	I
Oxacillin	-	R
Florfenicol	28	S
Apramycin	17	S
Ofloxacin	32	S
Enrofloxacin	32	S
Streptomycin	25	S
Amoxicillin	15	I
Colistin	-	R
Cefoperazone	24	S
Oxytetracycline	10	R
Cephalothin	16	S
Norfloxacin	30	S
Tylosin	10	R
Tetracycline	14	I
Sulphamethoxazole	24	S
Doxycycline	34	S
Kanamycin	25	S
Spectinomycin	-	R
Pristinamycin	20	S
Nalidixic Acid	13	I
Cefurocime	28	S
Lincomycin	15	I
Chloramphenicol	29	S
Ampicillin	8	R
Clindamycin	-	R
Flumequine	33	S
Nitrofurantoin	15	I
Vancomycin	19	S
Erythromycin	8	R
Ceftriaxone	22	S

“S” = Duyarlı ($d > 15$ mm); “I” = Orta ($10 \text{ mm} < d \leq 15$ mm); “R” = Dirençli ($d \leq 10$ mm)

4. TARTIŞMA

Staphylococcus türlerinin neden olduğu enfeksiyonlar balıklarda septisemi ile karakterize sistemik hastalıklara neden olmaktadır (Shah & Tyagi 1986). *Staphylococcus* türlerinin sarı kuyruk (*Seriola quinqueradiata*) ve kırmızı mercan (*Pagrus major*) (Kusuda & Sugiyama, 1981), gümüş sazanı (*Hypophthalmichthys molitrix*) (Shah & Tyagi, 1986), ot sazanı (*Ctenopharyngodon idella*) (Wang vd., 1996), tilapia (*Oreochromis sp.*) (Huang vd., 1999), gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) (Gil vd., 2000; Timur & Akaylı, 2003, Akaylı vd., 2011; Metin vd., 2014, Turgay vd., 2015), çipura (*Sparus aurata*) (Kubilay & Uluköy, 2004), levrek (*Dicentrarchus labrax*) (Korun vd., 2019; Çanak & Timur, 2020; Atanasoff & Urku, 2022), siraz (*Capoeta capoeta*) (Akaylı vd., 2019) ve sinarit (*Dentex dentex*) (Akaylı vd., 2011) balıklarında enfeksiyon etkeni olduğu tespit edilmiştir.

S. warneri, balık ve diğer hayvan türlerinden izole edilmiş bir bakteri türüdür (Metin vd., 2014; Çanak & Timur 2020; Haag vd., 2019) Gökkuşağı alabalığında yüzgeçlerde ülserli deri lezyonları, ekzoftalmus, abdomende asidik sıvı birikimi, karaciğerde anemiye neden olduğu bildirilmiştir (Gil vd., 2000). 1500-2000 g ağırlığındaki anaç gökkuşağı alabalıklarında *S. warneri*’nin neden olduğu enfeksiyonda letarji, anorexia, anal yüzgeç kaidelerinde aşınma, göz, çene ve ağızda kanama, renk koyulaşması, iç organlarda anemi, karaciğerde peteşiyel kanama, splenomegali ve barsakta sarı renkli eksudat bildirilmiştir (Metin vd., 2014). Bu araştırmada ise, Gil vd. (2000), Metin vd. (2014)’den farklı olarak enfekte yavru gökkuşağı alabalıklarının dış incelemesinde deride bir değişim olmadığı ancak balıklarda gözlerde bilateral ekzoftalmus, alt çenede kanama, dropsi, iç organlarda (karaciğer, böbrek) anemi, sindirim kanalında sarı eksudat, yağ dokuda hemoraji, anüs bölgesinde kanama, dalak dokusunda büyümeye gibi belirtilerin benzer olduğu dikkati çekmiştir.

Histopatolojik çalışmalar, balık patojenlerinin dokuda bıraktığı hasarı ortaya koyan bunun yanında bazı hastalıkların teşhisine yönelik sonuçlar veren önemli bir araçtır. *S. warneri* ile enfekte balıklarda yapılan çalışmalarda hastalığın teşhisinde daha çok bakteriyolojik ve moleküler yöntemler kullanılırken, etkenin balık dokularında neden olduğu patolojik bozuklıklar ile ilgili araştırmalar çok sınırlı kalmıştır. Rusev vd. (2016) yaptığı çalışmada mersin balıklarında (*Acipenser baerii*) ve hibrit

mersin balıklarında (*Huso huso* x *Acipenser baerii*) *Staphylococcus warneri* ve *Shewanella putrefaciens* ko-enfeksiyonunun balık dokularındaki etkilerini incelemiştir. Patolojik bulgularda, dalakta hiperemi, karaciğerde yüzeysel peteşiyal kanamalar ve mezenterik kan damarlarında hiperemi görülmüştür. Bir başka çalışmada, mersin balıklarında (*Acipenser gueldenstaedtii*) *Staphylococcus pasteuri*'nin neden olduğu enfeksiyonlarda histopatolojik incelemeler yapılmış ve nekrotik hepatosit hücrelerinin çevresinde lenfosit infiltrasyonu; böbrekte nekroz, dalakta hiperemi ve yoğun hemorajik alanlar belirlenmiştir (Atanasoff ve Urku, 2022). Bu araştırmada ise enfekte gökkuşağı alabalıklarının karaciğer dokusunda yangı hücrelerinin infiltrasyonu, dalak dokusunda hiperemi, böbrek tübüllere epitellerinde nekrotik değişiklikler görülmüştür. Bulgularımıza benzer bir şekilde *S. warneri* ile enfekte *C. guichnoti*'nin kas, solungaç, karaciğer, dalak, böbrek dokusunda patolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Söz konusu araştırmada enfekte balıkların karaciğer dokusunda, önemli derecede yangı hücre infiltrasyonu, dalak dokusunda hiperemi, böbrek dokusunda hiperemi ve tübüllerde nekrotik değişiklikler görülmüştür (Xiao vd., 2022).

S. warneri türünün streptomycin, doxycycline, amicacin, florfenikol antibiyotiklerine duyarlı olduğu ve enfekte balıklarda hastalığın, doksisiklin kullanıldıktan sonra etkili bir şekilde kontrol altına alındığı bildirilmiştir (Xiao vd., 2022). Metin vd., (2014) yaptığı bir başka çalışmada ise gökkuşağı alabalıklarından izole edilen *S. warneri*'nin florfenicol, enrofloxacin, doxycyclin, clindamycin, kanamycin, gentamicin, vancomycin antibiyotiklerine duyarlı olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmada da Metin vd., (2014)'nin sonuçlarına benzer bir şekilde *S. warneri*'nin söz konusu antibiyotiklere duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, yavru balıktan elde edilen ve konvansiyonel testlerle tanımlanamayan izolatlarının 16S rRNA gen bölgesinin PZR analizi ve sonrasında dizi analizi yapılmıştır. Genellikle moleküller bakteri tanımlanmasında kullanılan 16S rRNA universal gen bölgesi seçilmiştir. Şekil 2'de görülen 16S rRNA gen bölgesinin dizi analizi sonucunda elde edilen filogenetik ağaç bulgusunda *S. warneri*'nin diğer bir *Staphylococcus* türü olan *S. pasteuri*'ye benzerlik oranı %98 olarak bulunmuştur (Şekil 2). Metin vd., (2014) yaptığı bir çalışmada yetişkin gökkuşağı alabalıklarından *S. warneri*'yi ilk kez izole etmişler ve konvansiyonel tanımlama yöntemlere ilave olarak 16SrRNA gen dizi analizi kullanarak bakteriyi *S. warneri* olarak tanımlamışlardır. Bu çalışmaya göre izole edilen örnek filogenetik analiz sonucunda *S. warneri* ATCC 27836 %99,6 oranında ve *S. pasteuri* suşlarına ise %98 oranında benzer olduğu bulgusunu raporlamışlardır. Ancak *S. warneri* suşunun koloni renginin beyaz olduğu ve bu da sarı koloni oluşturan *S. pasteuri* türünden farklı olduğunu göstermektedir (Atanasoff ve Urku, 2022). Bizim sonuçlarımızda bu bulgularla örtüşmektedir.

Ancak, her ne kadar 16S rRNA filogenetik dizi analiz sonucu oldukça güvenilir olmasına rağmen yakın türlerin tanımlanmasında %98 gibi yüksek benzerlik vermesi durumda yeterli olmadığı ve yanlış tür tanımlamalarına neden olan sonuçlar verdiği düşünülmektedir (Kim vd., 2018; Ghebremedhin vd., 2008; Taponen vd., 2009). Çalışmamızda 16S rRNA gene dizi analizi benzerlik oranının oldukça yüksek çıkması nedeniyle daha tür spesifik ve korunmuş bir gen bölgesi olan *sodA* gen bölgesinin PZR analizleri yapılmıştır ve bunun sonucu olarak örneğimiz *S. warneri* türü olduğu doğrulanmıştır. Bu sonucun literatürde stafilocokusların tür tanımlanması için kullanılan korunmuş gen bölgesi ile yapılan çalışmalarla uyumlu olduğu bulunmuştur (Kim vd., 2018).

5. SONUÇ

Sonuç olarak bu çalışmada enfekte yavru dönemdeki gökkuşağı alabalıklardan fırsatçı bir patojen olan *S. warneri* türü teşhis edilmiş, ilk kez organlardaki histopatolojik etkileri belirlenmiş ve antibiyotik duyarlılık özellikleri de tespit edilmiştir.

FİNANS

Bu çalışmanın yürütülmesinde herhangi bir finansal destek alınmamıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

TEŞEKKÜR

Yazarlar Akdeniz Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi ve Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarlarına teşekkür etmektedir.

YAZAR KATKILARI

Kurgu: Ö.Ö., Ö.D., M.N., İ.T.Ç., H.E.Y.; Metodoloji: Ö.Ö., Ö.D., M.N., İ.T.Ç., H.E.Y.; Deneyin gerçekleştirilmesi: Ö.Ö., Ö.D., M.N., İ.T.Ç., H.E.Y., Ş.K.; Veri analizi: Ö.Ö., M.N., İ.T.Ç., H.E.Y; Makale yazımı: Ö.Ö., Ö.D., M.N., İ.T.Ç., H.E.Y.; Denetleme: Ö.Ö., Ö.D., M.N., İ.T.Ç., H.E.Y.; Tüm yazarlar nihai taslağı onaylamıştır.

ETİK ONAY BEYANI

Araştırmada hastalık belirtisi gösteren yeni ölmüş balıklarda Deney Hayvanı Kullanım Sertifikasına sahip kişilerce incelemelerde bulunulmuştur. Deneysel uygulama yapılmaması nedeniyle etik kurul onay beyanına gerek yoktur.

VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Bu çalışmada kullanılan veriler makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

KAYNAKLAR

- Akaylı, T., Ürkü, Ç., & Başaran, B. (2011). Kültür balıklarında *Staphylococcus cohnii* subsp. *cohnii* enfeksiyonu. *Aquatic Sciences and Engineering*, 26(2), 1-12.
- Akaylı, T., Urku, C., & Bozkurt, E. R. (2019). Determination of Co-infection in Diseased Seven khramulya (Capoeta capoeta). *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 22(6), 965-971. <https://doi.org/10.18016/ksutarimdoga.vi.544200>
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. & Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17), 3389-3402. <https://doi.org/10.1093/nar/25.17.3389>
- Atanasoff, A., & Urku, C. (2022). Isolation of *Staphylococcus pasteuri* in the cultured Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) in Bulgaria. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 32(4), 961-967. <http://doi.org/10.36899/JAPS.2022.4.0498>
- Bancroft, J. D. & Stevens, A. (1990). *Theory and practice of histopathological techniques* (3rd ed.). Churchill Livingstone.
- Bergey, D. H., & Holt, J. G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (9th Edition). Williams & Wilkins.
- Codoncode Aligner, CodonCode Corporation. Available from <https://www.codoncode.com/index.htm> (Erişim tarihi: 26.07.2022).
- Çanak, Ö., & Timur, G. (2020). An initial survey on the occurrence of staphylococcal infections in Turkish marine aquaculture (2013–1014). *Journal of Applied Ichthyology*, 36(6), 932-941. <https://doi.org/10.1111/jai.14141>
- Ghebremedhin, B., Layer, F., Konig, W., & Konig, B. (2008). Genetic classification and distinguishing of *Staphylococcus* species based on different partial gap, 16S rRNA, hsp60, rpoB, sodA, and tuf gene sequences. *Journal of Clinical Microbiology* 46(3), 1019–1025. <https://doi.org/10.1128/JCM.02058-07>
- Gil, P., Vivas, J., Gallardo, C. S., & Rodriguez, L. A. (2000). First isolation of *Staphylococcus warneri*, from diseased rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), in northwest Spain. *Journal of Fish Diseases*, 23(4), 295-298. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2761.2000.00244.x>
- Haag, A. F., Fitzgerald, J. R., & Penadés, J. R. (2019). *Staphylococcus aureus* in Animals. *Microbiology Spectrum*, 7(3), 7-3. <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0060-2019>
- Hoag A. F., Fitzgerald, J. R., & Penades, J. R. (2019). *Staphylococcus aureus* in Animals. *American Society For Microbiology*. 7(3), 11. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0060-2019>
- Huang, S. L., Chen, W. C., Shei, M. C., Liao, I. C., & Chen, S. N. (1999). Studies on epizootiology

- and pathogenecity of *Staphylococcus epidermidis* in tilapia (*Oreochromis spp.*) cultured in Taiwan. *Zoological Studies*, 38(2), 178-188.
- Kim, J., Hong, J., Lim, J. A., Heu, S., & Roh, E. (2018). Improved multiplex PCR primers for rapid identification of coagulase-negative staphylococci. *Archives of microbiology*, 200(1), 73-83. <https://doi.org/10.1007/s00203-017-1415-9>
- Korun, J., Yılmaz, M., Gökoğlu, M., & Çelik, Y. (2019). Isolation of *Staphylococcus hominis* from cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata L.*) in Antalya Bay, Turkey. *Journal of Agricultural Sciences*, 25(1), 123-128. <https://doi.org/10.15832/ankutbd.539018>
- Kubilay, A., & Ulukoy, G. (2004). First isolation of *Staphylococcus epidermidis* from cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) in Turkey. *Bulletin of European Association of Fish Pathologists*, 24(3), 137-143. <https://hdl.handle.net/20.500.12809/5368>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Kusuda, R., & Sugiyama, A. (1981). Studies on the Characters of *Staphylococcus epidermidis* Isolated from Diseased Fishes-I On the Morphological, Biological and Biochemical Properties. *Fish Pathology*, 16(1), 15-24. <https://doi.org/10.3147/jfsp.16.15>
- Marchesi, J. R., Sato, T., Weightman, A. J., Martin, T. A., Fry, J. C., Hiom, S. J., & Wade, W. G. (1998). Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Applied and environmental microbiology*, 64(2), 795-799. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.2.795-799.1998>
- Metin, S., Kubilay, A., Onuk, E. E., Didinen, B. I., & Yıldırım, P. (2014). First isolation of *Staphylococcus warneri* from cultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) broodstock in Turkey. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 34(5), 165-174.
- Musharrafieh, R., Tacchi, L., Trujeque, J., LaPatra, S., & Salinas, I. (2014). *Staphylococcus warneri*, a resident skin commensal of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with pathobiont characteristics. *Veterinary microbiology*, 169(1-2), 80-88. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.12.012>
- Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular biology and evolution*. 25. 1253-6. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>
- Rambaut, A. (2014). Figtree v1.4.2. Available at <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree> (Erişim tarihi: 26.07.2022).
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M. A., & Helsenbeck, J. P. (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61(3), 539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Rusev, V., Rusenova, N., Simeonov, R., & Stratev, D. (2016). *Staphylococcus warneri* and *Shewanella putrefaciens* Co-infection in Siberian Sturgeon (*Acipenser baerii*) and Hybrid Sturgeon (*Huso huso* x *Acipenser baerii*). *Journal of Microbiology & Experimentation*, 3(1), 00078. <http://dx.doi.org/10.15406/jmen.2016.03.00078>
- Shah, K. L., & Tyagi, B. C. (1986). An eye disease in silver carp, *Hypophthalmichthys molitrix*, held in tropical ponds, associated with the bacterium *Staphylococcus aureus*. *Aquaculture*, 55(1), 1-4. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90050-5](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90050-5)
- Taponen, S., & Pyörälä, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis—Not so different from *Staphylococcus aureus*? *Veterinary microbiology*, 134(1-2), 29-36. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.011>
- Timur, G., & Akayli, T. (2003, 23-26 October). First study of staphylococcosis in farmed rain-bow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry in Turkey. *International symposium on fisheries & zoology*, Istanbul, Turkey.
- Turgay, E., Karataş Stenium, S., & Candan, A. (2015). Kültürü yapılan gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* enfeksiyonu. *Aquatic Sciences and Engineering*, 30(1), 11-22. <https://doi.org/10.18864/ijfas.86779>
- Wang, W. S., Chang, Y. C., Shieh, M. T., & Lin, C. C. (1996). *Staphylococcus epidermidis* and

- cestode infection of cultured grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) in Taiwan. *Reports on Fish Disease Research*, 17, 57-63.
- Weinstein, M. P., & Lewis, J. S. (2020). The clinical and laboratory standards institute subcommittee on antimicrobial susceptibility testing: background, organization, functions, and processes. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(3), e01864-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.01864-19>
- Wood, C. A. (1992). Significant infection caused by *Staphylococcus warneri*. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(8), 2216. <https://doi.org/10.1128%2Fjcm.30.8.2216-2217.1992>
- Xiao, Z., Xue, M., Wu, X., Zeng, L., Zhu, Y., Jiang, N., Fan, Y., & Zhou, Y. (2022). Isolation and identification of *Staphylococcus warneri* from diseased *Coreius guichenoti*. *Aquaculture Reports*, 22, 100988. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100988>

Acta Aquatica Turcica

(e-ISSN: 2651-5474)

Manuscript Submit Date:/...../.....

Manuscript Title :.....
.....
.....

The author(s) warrant(s) that;

- The manuscript is original and is not being forwarded for publish and assessment to publication elsewhere after sending *Acta Aquatica Turcica* (Acta Aqua.Tr.)
- The publishing, printing and distribution of the article is belong to the legal entity under name *Acta Aquatica Turcica* (Acta Aqua.Tr.).
- The written and visual materials such as the text, tables, figures and graphics etc. of the manuscript don't contain any copyright infringement, and the all legal permissions for them have been taken by the author(s).
- The all scientific, ethic and legal responsibility of the article is belong to author(s).

Notwithstanding the above, the Contributor(s) or, if applicable the Contributor's Employer, retain(s) all proprietary rights other than copyright, such as

- ✓ The patent rights,
- ✓ The using rights of the all authors will be published in book or other work without paying fees,
- ✓ The rights to reproduce the article for their own purposes provided are not sell under the seal of secrecy of distribution rights, and in accordance with the following conditions has been accepted by us.

Full Name, Address of Corresponding Author:.....
.....

E-Mail : Signature :

Full Name	Address	Signature

Author Guidelines

PAGE SIZE

Page should be A4 (21 cm x 29.7 cm) size.

MARGINS

Top: 2.5 cm Right: 2.5 cm Left: 2.5 cm Bottom: 2.5 cm Gutter: 0 cm

TEXT FORMATING

Font : Times New Roman
Font size : 12-point
Alignment : Justified
Indent : 1.25 cm
Line spacing : 2
Line numbers : Continuously throughout the manuscript
Page numbers : Automatic numbered in the bottom center of the pages

TITLE PAGE

The title page should be uploaded to the system separately from the manuscript file. The title page should contain only the following information.

- Title

Title should be brief and informative reflecting the study. Abbreviations and formulae usage is not recommended.

- Running title

A short (running) title with a maximum of 75 characters should be given to reflect the title.

- Authors names

Name and surnames of the authors should be indicated clearly. Accuracy of the names spelling should be checked before submission.

- Institution

Format used: University/Institution, Faculty, Department, Province-COUNTRY

Example: Isparta University of Applied Sciences, Eğirdir Fisheries Faculty, Department of Aquaculture, Isparta-TURKEY

- Corresponding author

Please indicate the corresponding author who will be responsible for all the stages of publication, review, and post-publication. Contact information and mailing address of corresponding author should be given in the title page.

*Corresponding Author: Name Surname, e-mail: ...

- ORCID's of the authors

ORCID's of the authors should be identified. Please visit <https://orcid.org> to register an ORCID.

MANUSCRIPT FORMAT

Manuscripts in original articles, short communication, case report and reviews should be prepared in accordance with the format below*.

Original Article	Short Communication	Case Report	Review Article
	Title		
	Short title		
	Authors		
	Institutions		
	Corresponding author e-mail		
	ORCID's of the authors		
		Title	
		Abstract	
		Keywords	
		Turkish title*	
		Turkish abstract*	
		Turkish keywords*	
		1. Introduction	
2. Material and Methods	2. FREE CONTENT	2. Case Report	2. FREE CONTENT
3. Results		3. Discussion	
4. Discussion		4. Conclusion	
5. Conclusion			
	Acknowledgement		
	Funding		
	Conflict of Interest		
	Author Contributions		
	Ethical Statements		
	Data Availability Statement		
	References		

* Note: Turkish title, abstract and keywords supports are provided for non-Turkish authors.

ABSTRACT

Abstract should concisely contain the purpose of the study, the methods used, the prominent findings, and its contribution to the literature. It should be written both in Turkish and English with a maximum of 300 words.

KEYWORDS

Keywords should be chosen from words that are not included in the title and reflect the study. At least 3 (three), maximum 5 (five) keywords should be specified. There should be a comma (,) between words and a dot (.) after the last word.

Keywords: CITES, aquaponics, production protocol, mortality, immunology.

DECIMAL NUMBERS

Comma „,” should be used in Turkish manuscripts and dot “.” should be used in English manuscripts.

Turkish: % 10,25

English: 10.25%

SCIENTIFIC NAMES

The species name should be given without abbreviation (*Cyprinus carpio*) in the first place in the text, and then the genus name should be abbreviated (C. carpio).

TABLES

The table title should be positioned above the table and should be written concisely. Abbreviations used in the table should be explained below the table. The table must be in the form of a straight guide, with no special design applied. Authors are encouraged to convey the table contents to the reader in the table footer, independently of the article. Font size for footers should be 10 points. Tables should be cited in the text as Table 1, Table 2, etc. The tables should be given in the nearest place where it cited. Tables must be editable. Tables in screenshot or picture format are not accepted.

FIGURES

The figure title should be short and concise, centered at the bottom of the figure. Figures should have a minimum resolution of 300 DPI. Figures should be cited in the text as Figure 1, Figure 2, etc. The figures should be given in the nearest place where it cited.

ACKNOWLEDGEMENT

In this section, those who help to the conduct the study apart from financial support, are indicated.

Example: The authors thank Ahmet Taş (Isparta University of Applied Sciences, Turkey) for his helps during the laboratory part of the study.

FUNDING

In this section, institutions that provide financial support to the conduct of the study are indicated using the grant number.

Example-1: This study was supported by the Scientific Research Projects Coordination Unit of Isparta University of Applied Sciences grant 3241-E2-14.

Example-2: No financial support was received for the present study.

CONFLICT OF INTEREST

Conflicts of interest of the author(s), if any, are indicated in this section.

Example: The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The contributions of each author to the relevant stages of the study are indicated by using each work package and the first letters of the name and surname.

Example:

Fiction: IT; Literature: KL, TN; Methodology: CT, FU; Performing the experiment: FM, CT, FU; Data analysis: FU, TA; Manuscript writing: CT, FU, Supervision: CT. All authors approved the final draft.

ETHICAL APPROVAL STATEMENTS

The ethics committee approvals obtained for the study are indicated with information of institute, date, and number. Manuscripts that are not declare, although they require the Local Ethics Committee Approval in studies conducted with vertebrates, and the Approval for Ethics Committee Approval of Non-Interventional Investigates in survey/interview studies will not be considered for scientific evaluation.

Example-1: Local Ethics Committee Approval was not obtained because experimental animals were not used in this study.

Example-2: This study was conducted with the approval of Animal Experiments Local Ethics Committee of Isparta University of Applied Sciences (Date: 01.07.2010, No: 21438139-147).

DATA AVAILABILITY STATEMENT

In this section, data availability statement should be declared by the authors regarding the anonymous availability of the data used in the manuscript. Acta Aquatica Turcica encourages authors to share research data used.

Example-1: The data that support the findings of this study are openly available in Figshare at <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.11815566.v1>

Example-2: The data used in the present study are available upon request from the corresponding author. Data is not available to the public due to privacy or ethical restrictions.

Example-3: Data supporting the findings of the present study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Example-4: Data sharing is not applicable for the present study as no new data was created or analyzed.

Example-5: Research data is not shared.

Example-6: Data supporting the findings of the present study are available in the supplementary material to this article.

CITATIONS

Citations are written in the following formats, in the order of the year, separated by a semicolon (;).

- Single author

(Author, Year)

-- It is thought to be ... (Küçük, 2008; Güçlü, 2018a; Güçlü, 2018b).

-- According to Küçük (2008), ...

- Two authors

(Author-1 and Author-2, Year)

-- They are among the important parameters (Küçük and Güçlü; 2001; Ekici and Koca, 2021a; Ekici and Koca, 2021b).

-- According to Ekici and Koca (2021b),...

- Three or more authors

(Author-1 et al., Year)

-- It can be repeated periodically (Yiğit et al., 2006a; Yiğit et al., 2006b; Boyacı et al., 2020).

-- According to Boyacı et al. (2020),...

REFERENCES LIST

References should be indented 1.25 cm from the second line and should prepared according to APA version 7. Ideally, the names of all authors should be provided. Usage of “et al” in long author lists (more than 10) will also be accepted. Except for special uses, only the first letter of the title of all references should be capitalized, and all words in the names of the sources (journal, publishing house and congress) should be written with a capital letter.

1-Journal articles

The name of the journal (italic) without shortening, volume (italic), issue, page numbers and DOI number having an active link should be specified.

Petrauskienė, L., Utevska, O., & Utevsky, S. (2009). Can different species of medicinal leeches (*Hirudo* spp.) interbreed? *Invertebrate Biology*, 128(4), 324-331. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2009.00180.x>

Wagenaar, D. A., Hamilton, M. S., Huang, T., Kristan, W. B., & French, K. A. (2010). A hormone-activated central pattern generator for courtship. *Current Biology*, 20(6), 487-495. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.027>

2-Book

The title of book should be written in italic, and it should be followed with Publisher information.

Nesemann, H., & Neubert, E. (1999). *Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellea, Hirudinea*. Spektrum Akademischer Verlag.

Sawyer, R. T. (1986). *Leech biology and behavior*. Oxford University Press.

3-Book section

The title of the chapter should be normal, the title of the book should be in italic, the editor(s), the page numbers of the section, the publisher and the DOI number (if available) having active link should be included.

Le Couteur, D., Kendig, H., Naganathan, V., & McLachlan, A. (2010). The ethics of prescribing medications to older people. In S. Koch, F. M. Gloth, & R. Nay (Eds.), *Medication management in older adults* (pp. 29-42). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-457-9_3

McCormack, B., McCance, T., & Maben, J. (2013). Outcome evaluation in the development of person-centred practice. In B. McCormack, K. Manley, & A. Titchen (Eds.), *Practice development in nursing and healthcare* (pp. 190-211). John Wiley & Sons.

4-Web pages / Online documents

The title of the page should be in italic, the name of the website and the active link to the page should be specified.

International Union for Conservation of Nature. (2010). *Chondrostoma nasus*. <https://www.iucnredlist.org/species/4789/97800985>

Wikipedia. (2021). *Toxicology*. <https://en.wikipedia.org/wiki/Toxicology>

5-Dissertations/Thesis

The title of the dissertation/thesis should be in italic, its type (Doctoral, Master's, Specialization in Medicine) and the name of the university should be specified.

Filik, N. (2020). Inhibition effect of phenolic compounds on the environmental sensing system of *Aeromonas hydrophila* strains isolated from cultured fish and determination of the clonal relationship between strains by pulsed field gel electrophoresis method. [Doctoral dissertation, Isparta University of Applied Sciences].

Ozdal, A. M. (2019). Effects on growth and coloration of red pepper supplementation as pigment sources to diets of jewel cichlid (*Hemichromis guttatus*). [Master's thesis, Isparta University of Applied Sciences].

6-Conference, symposium presentations

Event date, presentation title (italic), presentation type (Oral presentation, Poster presentation), event name, city and country should be given.

Ceylan, M., Çetinkaya, O. (2017, October 4 - 6). Assessment of population structure and size of medicinal leech *Hirudo verbana*, inhabiting some model wetlands of Turkey [Oral Presentation]. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, Isparta, Turkey.

Snoswell, C. (2016, October 31 - November 3). Models of care for store-and-forward teledermatology in Australia [Poster presentation]. 7th International Conference on Successes and Failures in Telehealth, Auckland, New Zealand.

NOTE: Manuscripts that are not prepared in accordance with the journal writing rules will not be considered for scientific evaluation.

Yazım Kuralları

SAYFA BOYUTU

Sayfa A4 (21 cm x 29,7 cm) formatında olmalıdır.

KENAR BOŞLUKLARI

Üst: 2,5 cm Sol: 2,5 cm Alt: 2,5 cm Sağ: 2,5 cm Cilt payı: 0 cm

YAZI STİLİ

Yazı karakteri	: Times New Roman
Yazı karakteri büyüğünü : 12 punto	
Paragraf	: İki yana yaslı
Paragraf girintisi	: 1,25 cm
Satır aralığı	: 2
Satır numarası	: Metnin tümünde satır numarası atanmalıdır
Sayfa numarası	: Sayfaların altına gelecek şekilde otomatik numaralanmış

BAŞLIK SAYFASI

Başlık sayfası, makale dosyasından ayrı olarak sisteme yüklenmelidir. Başlık sayfasında sadece aşağıdaki bilgiler yer almmalıdır.

- Başlık

Başlık kısa, bilgilendirici ve çalışmayı net olarak yansıtmalıdır. Kısaltma ve formül kullanımı önerilmez.

- Kısa başlık

Başlığı yansıtacak şekilde maksimum 75 karakterde kısa bir başlık verilmelidir.

- Yazarlar

Yazarların ad ve soyadları kısaltılmadan açık olarak yazılmalıdır. Makale yüklenmeden önce yazar isimlerinin doğruluğu kontrol edilmelidir.

- Kurum bilgisi

Kullanılan düzen: Üniversite/Enstitü, Fakülte, Bölüm, İl-ÜLKE

Örnek: Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Isparta-TÜRKİYE

- Sorumlu yazar

Makalenin tüm aşamalarından sorumlu olacak sorumlu yazar belirtilmelidir. Başlık sayfasında sorumlu yazarın iletişim bilgileri ve posta adresi verilmelidir.

*Sorumlu Yazar: Adı Soyadı, e-posta: ...

- ORCID bilgileri

Tüm yazarların ORCID bilgileri belirtilmelidir. Lütfen ORCID tanımlaması yapmak için <https://orcid.org> adresini ziyaret ediniz.

MAKALE FORMATI

Araştırma makalesi, kısa makale, olgu sunumu ve derlemeler aşağıdaki formata uygun olarak hazırlanmalıdır.

Araştırma Makalesi	Kısa Makale	Olgı Sunumu	Derleme
	Başlık		
	Kısa başlık		
	Yazarlar		
	Kurum bilgileri		
	Sorumlu yazar e-posta adresi		
	ORCID bilgileri		
		Başlık	
		Özet	
		Anahtar kelimeler	
		Title	
		Abstract	
		Keywords	
		1. Giriş	
2. Materyal ve Metot	2. SERBEST İÇEREİK	2. Olgı Sunumu	2. SERBEST İÇEREİK
3. Bulgular			3. Tartışma
4. Tartışma			4. Sonuç
5. Sonuç			
		Teşekkür	
		Finans	
		Çıkar Çatışması Beyanı	
		Yazar Katkıları	
		Etik Onay Beyanı	
		Veri Kullanılabilirlik Beyanı	
		Kaynaklar	

ÖZET

Özet, çalışmanın amacını, kullanılan metotları, öne çıkan bulguları ve literatüre katkısını öz bir şekilde içermelidir. Hem Türkçe hem de İngilizce dillerinde maksimum 300 kelime olacak şekilde yazılmalıdır.
Not: Türk olmayan yazalar için Türkçe Özet desteği sağlanmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER

Anahtar kelimeler başlıkta yer almayan, çalışmayı yansıtacak kelimelerden seçilmelidir. En az 3 (üç), en çok 5 (beş) kelime belirtilmeli; kelimeler aralarında virgül (,) son kelimededen sonra ise nokta (.) gelmelidir.

Anahtar kelimeler: CITES, akuaponik, üretim protokülü, mortalite, immünoloji.

ONDALIK GÖSTERİM

Türkçe makalelerde „,“ (virgül) İngilizce makalelerde ise „.” (nokta) olmalıdır.

Türkçe: %10,25

İngilizce: 10.25%

LATİNCE GÖSTERİM

Tür ismi, metinde ilk geçtiği yerde kısaltılmadan (*Cyprinus carpio*), sonrasında ise cinsi ismi kısaltılarak (*C. carpio*) verilmelidir.

TABLOLAR

Tablo başlığı, tablonun üstüne gelecek şekilde kısa ve öz olmalıdır. Tabloda yer alan kısaltmalar tablonun altında açıklanmalıdır. Tablo özel bir tasarım uygulanmamış, düz kılavuz şeklinde olmalıdır. İhtiyaç bulunması halinde tablo içi metinde yazı karakteri büyülüğu 10 puntoya kadar düşürülebilir. Tablolara metin içinde Tablo 1, Tablo 2, ... şeklinde atıf yapılmalıdır. Tablolar, alıntılandıkları yere en yakın yerde verilmelidir.

Tablolar düzenlenenebilir olmalıdır. Ekran görüntüsü veya resim formatındaki tablolar kabul edilmemektedir.

ŞEKİLLER

Şekil başlığı, şeitin altına ortalanmış olarak kısa ve öz olmalıdır. Şekiller minimum 300 DPI çözünürlükte olmalıdır. Şekillere metin içinde Şekil 1, Şekil 2, ... şeklinde atıf yapılmalıdır. Şekiller, alıntılandıkları yere en yakın yerde verilmelidir.

TEŞEKKÜR

Bu bölümde finansal destek dışında çalışmanın yürütülmesine katkı sunanlar belirtilir.

Örnek: Yazarlar çalışmanın laboratuvar bölümünde yardım eden Ahmet Taş'a (Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi, Türkiye) teşekkür etmektedir.

FİNANS

Bu bölümde çalışmanın yürütülmesine finansal destek sağlayan kurumlar destek numarası kullanılarak belirtilir.

Örnek-1: Bu çalışma 3241-E2-14 proje numarası ile Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Örnek-2: Bu çalışmanın yürütülmesinde herhangi bir finans desteği alınmamıştır.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Bu bölümde yazarların varsa çıkar çatışmaları belirtilir.

Örnek: Yazarlar, bu çalışmayı etkileyebilecek finansal çıkarlar veya kişisel ilişkiler olmadığını beyan eder.

YAZAR KATKILARI

Bu bölümde isim ve soy ismin ilk harfleri kullanılarak yazarların çalışmanın ilgili aşamalarına yaptıkları katkılar belirtilir.

Örnek:

Kurgu: BT; Metodoloji: CT, FU; Deneyin gerçekleştirilmesi: FM, CT, FU; Veri analizi: FU, TA; Makale yazımı: CT, FU, Denetleme: CT. Tüm yazarlar nihai taslağı onaylamıştır.

ETİK ONAY BEYANI

Bu bölümde çalışmanın yürütülmesinde alınan etik kurul onayının alındığı kurum, tarih ve numarası belirtilir. Omurgalı hayvanlarla yürütülen çalışmalarında Yerel Etik Kurul Onayı, anket/mülakat çalışmalarında ise Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu Onayı gerektirdiği halde beyan edilmeyen makaleler bilimsel değerlendirmeye alınmamaktadır.

Örnek-1: Bu çalışmada deney hayvanları kullanılmaması nedeniyle Yerel Etik Kurul Onayı alınmamıştır.

Örnek-2: Bu çalışma Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul onayı ile yürütülmüştür (Tarih: 01.07.2010, No: 21438139-147).

VERİ KULLANILABİLİRLİK BEYANI

Bu bölümde makalede kullanılan verilerin anonim kullanılabılırliğine ilişkin beyanda bulunulmalıdır. Acta Aquatica Turcica dergisi, yazarları araştırma verilerini paylaşmaya teşvik etmektedir.

Örnek-1: Bu çalışmada kullanılan veriler Figshare platformunda <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.11815566.v1> DOI adresi ile erişime açıktır.

Örnek-2: Bu çalışmada kullanılan verilere ilgili yazardan talep üzerine erişilebilir. Veriler, gizlilik veya etik kısıtlamalar nedeniyle kamuya açık değildir.

Örnek-3: Bu çalışmada kullanılan veriler makul talep üzerine ilgili yazardan temin edilebilir.

Örnek-4: Bu çalışmada yeni veri oluşturulmadığı veya analiz edilmediği için veri paylaşımı bu makale için geçerli değildir.

Örnek-5: Araştırma verileri paylaşılmaz.

Örnek-6: Bu çalışmada kullanılan veriler bu makalenin ekinde mevcuttur.

ATIFLAR

Atıflar yıl sırasına göre ve aralarında noktalı virgül (;) olacak şekilde aşağıdaki formatlarda yazılır:

- Tek yazar:

(Yazar, yıl)

-- ... olduğu düşünülmektedir (Küçük, 2008; Güçlü, 2018a; Güçlü, 2018b).

-- Küçük (2008)'e göre ...

- İki yazar:

(Yazar-1 ve Yazar-2, yıl)

-- ... önemli parametreler arasında yer almaktadır (Küçük ve Güçlü; 2001; Ekici ve Koca, 2021a; Ekici ve Koca, 2021b).

-- Ekici ve Koca (2021b)'a göre ...

- Üç ve daha çok yazar:

(Yazar vd., yıl)

-- ... dönenmsel olarak tekrarlayabilmektedir (Yiğit vd., 2006a; Yiğit vd., 2006b; Boyacı vd., 2020)

-- Boyacı vd. (2020)'e göre ...

KAYNAKLAR

Kaynaklar APA 7. versiyona göre yazılmalıdır. Tüm yazarların isimleri verilmelidir, ancak 10. yazardan sonra “vd.” kısaltması da kabul edilmektedir. Özel kullanımlar hariç olmak üzere tüm eser türlerinde eser isminin sadece ilk harfi büyük, eserin yayınlandığı veya sunulduğu dergi, yayinevi, kongre isimlerinde geçen tüm kelimeler büyük harfle başlanarak yazılmalıdır.

1-Makale

Dergi ismi kısaltılmadan (italik), cilt (italik), sayı, sayfa numaraları ve aktif link içerecek şekilde DOI numarasına yer verilmelidir:

Petrauskienė, L., Utevska, O., & Utevsky, S. (2009). Can different species of medicinal leeches (*Hirudo* spp.) interbreed? *Invertebrate Biology*, 128(4), 324-331. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2009.00180.x>

Wagenaar, D. A., Hamilton, M. S., Huang, T., Kristan, W. B., & French, K. A. (2010). A hormone-activated central pattern generator for courtship. *Current Biology*, 20(6), 487-495. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2010.02.027>

2-Kitap

Kitap başlığı italik olacak şekilde ve yayın kuruluş ismi olacak şekilde verilmelidir.

Nesemann, H., & Neubert, E. (1999). *Annelida, Clitellata: Branchiobdellida, Acanthobdellida, Hirudinea*. Spektrum Akademischer Verlag.

Sawyer, R. T. (1986). *Leech biology and behavior*. Oxford University Press.

3-Kitap bölümü

Bölüm başlığı normal, kitap başlığı italik olacak şekilde, editör(ler), bölümün sayfa numaraları, yayıncı kuruluş

ve varsa aktif link içerek şekilde DOI numarasına yer verilmelidir:

Le Couteur, D., Kendig, H., Naganathan, V., & McLachlan, A. (2010). The ethics of prescribing medications to older people. In S. Koch, F. M. Gloth, & R. Nay (Eds.), Medication management in older adults (pp. 29-42). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-457-9_3

McCormack, B., McCance, T., & Maben, J. (2013). Outcome evaluation in the development of person-centred practice. In B. McCormack, K. Manley, & A. Titchen (Eds.), Practice development in nursing and healthcare (pp. 190-211). John Wiley & Sons.

4-Web sitesi

Sayfa başlığı italik, websitesinin ismi ve sayfanın aktif linki olacak şekilde verilmelidir.

International Union for Conservation of Nature. (2010). Chondrostoma nasus. <https://www.iucnredlist.org/species/4789/97800985>

Wikipedia. (2021). Toxicology. <https://en.wikipedia.org/wiki/Toxicology>

5- Tezler

Tez başlığı italik olacak şekilde, tez türü (Doktora, Yüksek lisans, Tıpta Uzmanlık) ve üniversite ismi belirtilmelidir.

Filik, N. (2020). Kültür balıklarından izole edilen Aeromonas hydrophila suşlarında fenolik bileşenlerin çevreyi algılama sistemi üzerine inhibisyon etkisi ve suşlar arasındaki klonal ilişkinin pulsed field gel elektroforez yöntemiyle belirlenmesi [Doktora tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi].

Özdal, A. M. (2019). Effects on growth and coloration of red pepper supplementation as pigment sources to diets of jewel cichlid (Hemichromis guttatus) [Yüksek lisans tezi, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi].

6- Konferans, sempozyum sunumları

Etkinlik tarihi, sunu başlığı (italik), sunum türü (Sözlü sunum, Poster sunum), etkinlik adı, şehir ve ülke verilmelidir.

Ceylan, M., Çetinkaya, O. (2017, Ekim 4 - 6). Assessment of population structure and size of medicinal leech Hirudo verbana, inhabiting some model wetlands of Turkey [Sözlü sunum]. International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, Isparta, Türkiye.

Snoswell, C. (2016, Ekim 31 - Kasım 3). Models of care for store-and-forward teledermatology in Australia [Poster sunum]. 7th International Conference on Successes and Failures in Telehealth, Auckland, Yeni Zelanda.

NOT: Dergi yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmayan makaleler değerlendirmeye