

**SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
EĞİRDİR SU ÜRÜNLERİ FAKÜLTESİ DERGİSİ  
(YIL 2016– CİLT: 12 – SAYI 2)**

Süleyman Demirel Üniversitesi Eğırdır Su Ürünleri Fakültesi  
Adına Sahibi  
(Owner of Behalf of Süleyman Demirel University Faculty of Fisheries)

Sevgi SAVAŞ

**Baş Editör (Editor in Chief)**

Yunus Ömer BOYACI

**Editörler (Editors)**

Şengül BİLGİN  
Seval BAHADIR KOCA  
Seçil METİN

**Yardımcı Editörler (Co Editors)**

Salim Serkan GÜÇLÜ  
Ufuk Gürkan YILDIRIM

**İngilizce Editörü (English Editor)**

Yeşim ÖZOĞUL

**İletişim (Contact)**

Süleyman Demirel Üniversitesi,  
Eğırdır Su Ürünleri Fakültesi Dergisi Yayın Komisyonu Başkanlığı,  
32260 Doğu Yerleşkesi-İSPARTA  
Tel: 0 246 2118676- 66 Faks: 0 246 2118697  
<http://sdu.dergipark.gov.tr/egirdir>  
E-Posta: esufdergi@sdu.edu.tr

**Basılı ISSN: 1300 – 4891 / E. Dergi ISSN: 1308 - 7517**

Süleyman Demirel Üniversitesi Basımevi – İSPARTA  
Basım Tarihi: Kasım - 2016

**SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ**  
**EĞİRDİR SU ÜRÜNLERİ FAKÜLTESİ DERGİSİ**  
**(YIL 2016 – CİLT: 12 – SAYI: 2)**

---

**EDITORIAL BOARD\***

---

Antonin KOUBA	University of South Bohemia, Czech Republic
Ayşegül KUBİLAY	Süleyman Demirel University, Türkiye
Eugenia BEZİRTZOGLU	Democritus University of Thrace, Greece
Fahrettin KÜÇÜK	Süleyman Demirel University, Türkiye
Hamid Reza ESMAEILI	Shiraz University, Iran
Karim ERZINI	University of Algarve, Portugal
Magdolna Müllerné TRENOVSZKİ	Szent István University, Hungary
Osman ÇETİNKAYA	Süleyman Demirel University, Türkiye
Pavel KOZAK	University of South Bohemia, Czech Republic
Sonia S. SOMGA	DA-BFAR, Philippines
Stamatis ZOGARİS	Hellenic Centre for Marine Reseach, Greece
Tom WİKLUND	Åbo Akademi University, Finland
Victoras LIORANČAS	Klaipeda State University, Lithuania
Viladimir PESIC	University of Montenegro, Karadağ
Yazdan KEIVANY	Isfahan University of Technology, Iran

---

\* Liste akademik unvan ve isme göre alfabetik sırayla hazırlanmıştır.

## İÇİNDEKİLER (CONTENTS)

### Research Articles:

- 
- Yavru ve Jüvenil Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Kekik Uçucu Yağının (*Origanum vulgare*, L.) Büyüme Performansı ve Yemden Yararlanma Üzerine Etkisi  
**Esra CİHANGİR, İbrahim DİLER**..... 86-96
- First Record of the Ciliate *Praethecacineta halacari* (Ciliophora: Suctorea) Epibiont on *Copidognathus* Halacarid Mite from Portugal  
**Furkan DURUCAN, Yunus Ömer BOYACI**..... 97-100
- Mersin İlinde Tüketime Sunulan Kabuklu ve Yumuşakça Türlerinin Kas Dokularında Ağır Metal Düzeyleri  
**Cengiz KORKMAZ, Özcan AY, Çoşkun ÇOLAKFAKIOĞLU**..... 101-109
- Effect of Dietary Sage (*Salvia officinalis* L.), Licorice Root (*Glycyrrhize glabra* L.), Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Echinaceae (*Echinacea angustifolia* Hell) on Nonspecific Immunity and Resistance to *Vibrio anguillarum* Infection in Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*)  
**Sedef TERZİOĞLU, Öznur DİLER**..... 110-118
- Satışa Sunulan Bazı Su Ürünlerinin Biyojen Amin Düzeylerinin Araştırılması  
**Aynur KARSANDI, Şengül BİLGİN**..... 119-127
- Thiacloprid ve D-Tubokurarın'ın Kurbağa İskelet Kası Üzerine Ultrastrüktürel Etkileri  
**Yusuf ÇAMLICA, Esra PEKOĞLU, Şakir Necat YILMAZ**..... 128-140
- Thiacloprid ve D-Tubokurarın'ın *Rana ridibunda* Gastrokinemius Kası Üzerine Toksik Etkileri III: Oksidatif Potansiyel  
**Yusuf ÇAMLICA, Esra PEKOĞLU, Serap YALIN**..... 141-148
- Isparta İli İçsu Balıkları Faunası ve Ekolojik Durumu  
**İskender GÜLLE, Fahrettin KÜÇÜK**..... 149-157
- Akdeniz Bölgesi Sahil Şeridi Deniz Balıkçılığının Sosyo-ekonomik Yapısı  
**Naciye ERDOĞAN SAĞLAM, Emir KARADAL**..... 158-169
- First Report of *Vibrio harveyi* Infection in Diseased Common Dentex (*Dentex dentex*) Cultured in Turkey  
**Emre TURGAY, Süheyla KARATAŞ**..... 170-176

## Yavru ve Juvenil Gökkuşaağı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, L.) Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Kekik (*Origanum vulgare*, L.) Uçucu Yağının Büyüme Performansı ve Yemden Yararlanma Üzerine Etkisi\*

Esra CİHANGİR, İbrahim DİLER\*\*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Isparta

Geliş : 13.04.2016

Kabul : 17.05.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*\*Sorumlu Yazar: ibrahimdiler@sdu.edu.tr

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Bu çalışmada yavru ve juvenil gökkuşaağı alabalığı yemlerine farklı oranlarda ilave edilen kekik (*Origanum vulgare*) uçucu yağlarının büyüme performansı, yemden yararlanma ve yaşama oranı üzerine etkisi belirlenmiştir. Bu amaçla, deneme yemlerine 3 farklı konsantrasyonda (0,125, 1,5, 3,0 mg/kg) kekik yağı ilave edilmiştir. Yavru (ort. 0,4±0,5 g) ve juvenil (ort. 27,50±1,5g) gökkuşaağı alabalıkları 90 gün boyunca (11°C su sıcaklığı, 7,5 ppm O<sub>2</sub>, 7,5 pH) beslenmişlerdir. Tüm deneme grupları 3 tekerrürlü olarak planlanmış ve tesadüfi parselleme metoduna göre balıklar gruplara dağıtılmıştır. Deneme sonuçlarına göre yavru alabalıklarda sadece deneme sonu ağırlığı ve canlı ağırlık artışında gruplar arası fark önemli çıkmışken, juvenil alabalıklarda canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranı ve yaşama oranında gruplar arası fark önemli bulunmuştur (p<0,05). Juvenil alabalıklarda deneme sonu ağırlığı, canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranı ve yaşama oranı açısından en iyi veriler 3,0 mg/kg grubunda elde edilmiş ve istatistiksel olarak fark önemli çıkmıştır (P<0,05). Sonuç olarak; bu çalışmada, kekik uçucu yağının balık yemlerine ilave edilmesi ile büyüme destekleyici etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Gökkuşaağı alabalığı, büyüme performansı, *Origanum vulgare*, kekik uçucu yağı.

### The Effects of Adding Different Proportions of Thyme Essential Oil (*Origanum vulgare* L.) on the Growth Performance and Feed Efficiency of Fry and Juvenile Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*)

#### Abstract

In this study, added in different proportions thyme (*Origanum vulgare*) essential oil to feed fry and juvenile rainbow trout determined effect on the growth performance, feed utilization and survival rate. For this purpose, the thyme essential oil to the experimental feed at three different concentrations (0.125, 1.5, 3.0 mg kg<sup>-1</sup>) was added. The fry rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (average 0.4±0.5 g) and juvenile rainbow trout (approx. 27.50±1.5 g), (water temperature 11°C, dissolved oxygen 7.5 ppm and pH 7.5) were fed for 90 days. All treatment groups were planned three replicate and randomly plots method and fish were distributed to groups. According to the trial results were obtained and different only weight gain significant between in fry rainbow trouts groups while, there were different about weight gain, specific growth rate, feed conversion ratio and survival rate significant between juvenile rainbow trouts (p<0,05). According to the trial results were obtained the best group about weight gain, spesific growth rate, feed conversion ratio and survival the rate group of 3.0 mg kg<sup>-1</sup> in juvenile rainbow trouts (p<0,05). As a results in this study, addition of thyme essential oil to fish feed is determined to have a growth stimulating effected.

**Key words:** Rrainbow trout, *Origanum vulgare*, growth performance, thyme essential oil

\*Bu çalışma yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

## GİRİŞ

Ülkemizde su ürünleri üretiminde alabalık, levrek ve çipura gibi üç önemli türün üretimi yapılmaktadır ve bu türler içerisinde en yüksek üretim 107,533 ton ile alabalıklara aittir (TÜİK, 2014). Alabalık üretimini önemli yapan unsurların başında diğer salmonid türlerine göre hastalıklara karşı daha dayanıklı olmaları, hızlı büyümeleri ve yem değerlendirme oranlarının düşük olması gösterilebilir. Bununla birlikte yoğun üretim koşullarında yaşanan sıkıntıların bazıları alabalıklarda da gözlenmektedir.

Dünyada yapılan araştırmalar sayesinde tıbbi bitki ekstraktları ve uçucu yağların bazı bakteri ve mantar türleri üzerine antimikrobiyal özellikleri olduğu uzun yıllardan beri bilinmektedir (Kıvanç ve Akgül, 1986; Dıgırak vd., 2002). Son yıllarda tıbbi bitkilerin genel hayvansal ve su ürünleri üretiminde yem katkı maddesi, büyümede artış, yem değerlendirmede olumlu sonuçların eldesi, hastalıklardan koruyucu ürünler olarak kullanılması konusunda bazı araştırmalar yapılmıştır (Hammer vd., 1999; Athanassopoulou vd., 2004; Rahman vd., 2009; Zheng vd., 2009; Ekici vd., 2011; Görmez, 2012). Günümüzde su ürünleri alanında ekosisteme zarar vermeyen, doğal, güvenilir, antimikrobiyal alternatif ajanların *in vivo*'da etkin dozlarının belirlenerek sektöre kazandırılmasına ihtiyaç vardır.

Yem katkı maddeleri, yemden yararlanmayı arttırmak, elde edilen hayvansal ürünlerin miktar ve kalitesini yükseltmek, hayvanların sağlıklarını korumak ve sonuçta elde edilen ürünün maliyetini düşürmek amacıyla kullanılan maddelerdir. Bununla birlikte son yıllarda yoğun antibiyotik kullanımı sonucu ortaya çıkan sorunlar nedeniyle alternatif yem katkıları kullanımını ön plana çıkaran yeni yaklaşımlar uygulanmaya başlanmıştır. Uygulamada kullanılan yeni alternatif katkı maddeleri enzimler, organik asitler, probiyotikler, oligosakkaritler (prebiyotikler) ve bitki ekstraktlarıdır (Kahraman, 2009).

Dünyada su ürünleri sektöründe de tıbbi bitkilerin alkaloidleri, flavonoidleri, pigmentleri, fenolik içerikleri, terpenoidleri, steroidleri ve uçucu yağlarının yeme ilave edilerek kullanılması söz konusudur. Bu ürünler sentetik kimyasallara alternatif olarak görülmektedir (Yiğitarslan vd., 2011).

Ülkemiz özellikle uçucu yağ içeren bitkiler bakımından çok zengin bir floraya sahiptir. Akdeniz Bölgesi, tıbbi ve aromatik bitkilerin çoğunluğunu içeren *Labiatae* familyasının gen merkezidir (Karakaya, 2003; Özgüven vd., 2005). Öne çıkan bazı türlerin başında, İstanbul kekiği (*Origanum vulgare*) gelmektedir. *Origanum* türlerinde karvakrol oranı %70-80 olarak değişmekte olup karvakrol antimikrobiyal (bakteri, parazit, mantar) etkiye sahip temel bileşendir (Oflaz vd., 2004).

*Origanum onites* L. Avrupa' da bilinen adı ile '*Turkish Oregano*' ile yapılan çalışmalarda %1-5 verim, %50-82 karvakrol tespit edilmiştir. Avrupa' da "*Greek Oregano*" olarak bilinen, *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* bitkisi (İstanbul kekiği, Çanakkale kekiği) ile yapılan çalışmalarda ise uçucu yağında % 1-7 verim ve % 23-80 oranında karvakrol tespit edilmiştir (Başer, 2000, 2002). Kanal yayın (*Ictalurus punctatus*) balıklarında *Origanum heracleoticum* L. uçucu yağı (% 0,05) yanı sıra karvakrol (% 0,05) + timol (%0,05) ve karvakrol (% 0,0485) + timol (% 0,0015) karışımlarının antioksidan etkilerinin incelendiği çalışmada, en iyi etkinin yeme *Origanum* uçucu yağının eklenmesiyle sağlandığı tespit edilmiştir (Zheng vd., 2009).

Bitkilerin ve içerdikleri aktif maddelerin yetiştiricilikte kullanılma olanaklarının belirlenmesi amacıyla yapılan sınırlı sayıda araştırma, yeme ve suya ilave edilen bitki ekstraktlarının yem tüketimi, yemden yararlanma, büyüme ve karkas kalitesini iyileştirdiği

bildirilmiştir (Şimşek vd., 2005; Aly vd., 2008; Immanuel vd., 2009; Ahilan vd., 2010; Oskoi vd., 2012).

Bu çalışmanın hedefi ülkemizde bol miktarda bulunan *Origanum* tıbbi bitki türlerinin su ürünleri sektörü için pratikte kullanılabilir hale getirilmesidir. Daha iyi bir büyüme performansı ve yem etkinliği ile ülkemiz tıbbi bitkilerinin katma değerinin artırılması amaçlanmaktadır. Su ürünleri sektörü için kekik grubundan *Origanum* cinsi *Origanum vulgare* (İstanbul kekiği) uçucu yağı ile yemden yararlanma, büyüme performansı ile elde edilecek verilerin sektöre aktarılması hedeflenmektedir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Deneme Planı

Çalışmada, Isparta'nın Aksu İlçesinde bulunan özel bir işletmeden sağlanan daha önce hastalık geçirmemiş, aşılanmamış ve herhangi bir hastalığa maruz kalmamış olan yavru (ort. ağırlıkları  $0,4 \pm 0,5$  g) ve juvenil (ort. ağırlıkları  $27,50 \pm 1,5$ g) gökkuşuğu alabalıkları kullanılmıştır. İlk olarak 0,5 g'lık yavru balıklar 400 l'lik fiberglas tanklara konulan 50x50x100 cm ebadında etrafı ağ fileli küçük kafeslerde denemeye alınmıştır. İkinci olarak 27 g'lık juvenil alabalıklar 400 l'lik kare fiberglas tanklarda denemeye alınmışlardır. Deneme öncesi yavru ve juvenil gökkuşuğu alabalıkları 15 günlük adaptasyon sonrasında gruplara ayrılmışlardır. Her denemede gruplara üç tekrarlı olarak  $4 \times 3 = 12$  deneme tanklarına boy-ağırlıkları birbirine yakın olarak, tesadüfi parsel yöntemine göre 70 adet balık/tank stoklama oranı ile toplam 840'ar adet yavru ve juvenil alabalık kullanılmıştır. Her iki deneme grubundaki alabalıkların yemlerine; kekik yağı ilavesiz kontrol grubu ile 0,125 mg/kg, 1,5 mg/kg ve 3,0 mg/kg oranlarında kekik yağı ilave edilen gruplardaki balıklar 12'şer hafta (90 gün) boyunca doyuncaya kadar beslenmiştir.

Denemede kullanılan *O. vulgare* L. yapraklarının yağ verim oranları dikkate alınarak çiçekli dönemlerinde bitki toplama merkezleriyle irtibat kurularak temin edilmiştir. Bitki örneklerinin teşhisleri, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen/Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim Dalı'nda yaptırılmıştır.

Denemede yavru ve juvenil gökkuşuğu alabalıkları için kullanılan yemlerin besin madde değerleri sırasıyla ham protein %55-40; ham yağ %15-12; ham selüloz %1,94-2,0; ham kül %8-12 ve sindirilebilir enerji 4200-3400 kcal/kg olarak analiz edilmiştir.

Deneme süresi toplam 90 gün olup, her 30 günde bir balıkların biyometrik ölçümleri yapılarak bitki türüne ait uçucu yağların büyüme, yem değerlendirme, yaşama oranı üzerine etkileri belirlenmiştir. Denemede, balıkların ağırlık ölçümleri, 0,001 g hassasiyetli dijital teraziyile, toplam boy ölçümleri ise 1 mm bölmeli ölçüm cetveli ile yapılmıştır.

### Araştırmada Kullanılan Bitki Uçucu Yağının Yeme İlave Edilmesi

Denemede kullanılan yemlere *O. vulgare* türüne ait uçucu yağdan 0,125-1,5-3,0 mg/kg oranında ilave edilmiştir. Kontrol grubuna ise herhangi bir yağ ilave edilmemiştir.

### Deneme Yemlerinin Hazırlanması

Yeme uçucu yağın ilavesi ayçiçeği yağı ile birlikte (20 ml/kg) farklı oranlarda ilave edilerek spreyleme yöntemi ile yapılmıştır. Uçucu yağ içeriğindeki bileşenlerin etkinliklerinin korunması amacıyla yemler haftalık olarak hazırlanmış ve kapaklı cam şişelerde  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de depolanmıştır.

*O. vulgare* bitkisine ait uçucu yağlar hizmet alımı yoluyla özel bir firmaya çıkartılmıştır. Elde edilen uçucu yağın ana bileşenler yönünden kimyasal yapısı Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Araştırma Laboratuvarındaki gaz kromatografi cihazıyla (GC/MS aparatı kullanılarak) belirlenmiştir.

### **Büyüme Performansı Üzerine Etkisinin Belirlenmesi**

Büyüme parametrelerinin hesaplanmasında kullanılan formüller Tablo 1'de verilmiştir (Çetinkaya, 1995; De Silva ve Anderson, 1995; Goddard, 1996)

### **Su Kalitesi**

Araştırmada kullanılan artezyen suyunun debisi 12 lt/dk, tanklardaki suyun ortalama sıcaklığı  $11,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , pH' sı 7,5 ve suda çözülmüş oksijen miktarı 7,4 mg/lt olarak ölçülmüştür.

### **İstatistiksel Analizler**

Denemede elde edilen veriler (büyüme değerleri, yem dönüşüm oranları gibi) SPSS 16.0 paket programında Anova testi ile değerlendirilmiştir. (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Denemede incelenen çeşitli parametrelerin önem derecelerini karşılaştırırken sonuçlar ortalama değer ve standart sapma olarak verilmiştir. Gruplar arasındaki ayırım varyans analizi ve grupların karşılatırılması Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiş ve önem düzeyi  $P=0,05$  seçilmiştir (Özdamar, 2001).

## **BULGULAR**

### **Kekik Uçucu Yağının Yağ Asit Bileşenleri**

Çalışmada kullanılan *O. vulgare* türüne ait uçucu yağların kimyasal bileşen miktarları yapılan analiz sonuçlarına göre ana bileşenin karvakrol olduğu tespit edilmiş olup bu bileşenlerin oransal değerleri sırasıyla karvakrol %94,31,  $\gamma$ -terpinen %1,53, simen %1,29, linalool %1,25, izoberneol %1,13, misen %0,49 olarak ölçülmüştür.

### **Kekik Uçucu Yağının Yavru Gökkuşığı Alabalıklarının Büyüme Performansı Üzerine Etkileri**

Farklı oranlarda *O. vulgare* L. uçucu yağ ile beslenen gökkuşığı alabalıklarında büyüme performansının belirlenmesi amacıyla ölçülen biyometrik parametreler Tablo 1' de verilmiştir.

*O.vulgare* L. yağı ile yapılan yavru alabalık besleme denemesinde grupların canlı ağırlık artış ağırlıkları  $1,59 \pm 0,54$  -  $1,83 \pm 0,63$  g arası elde edilirken,  $0,125$  mg/kg ve  $1,5$  mg/kg gruplarında  $3,0$  mg/kg ve kontrol grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ) (Tablo 1, Şekil 1). Gruplar arasında spesifik büyüme oranı  $1,75 \pm 0,05$  ve  $1,91 \pm 0,06$  arasında, yem dönüşüm oranı  $0,82 \pm 0,05$  -  $0,95 \pm 0,05$  arasında elde edilirken istatistiksel olarak gruplar arasında fark görülmemiştir ( $p > 0,05$ ) (Tablo 1, Şekil 1).

**Tablo 1.** Farklı oranlarda kekik uçucu yağı ile beslenen yavru ve juvenil gökkuşağı alabalıklarında biyometrik parametreler ( $X \pm SD$ )\*

	Deneme grupları (mg/kg)			
	Kontrol	0,25	1,5	3,0
<b>Yavru alabalıkların büyümeye ilişkin verileri</b>				
<b>Deneme başlangıç ağırlığı (g)</b>	0,41±0,10	0,39±0,13	0,40±0,12	0,36±0,08
<b>Deneme sonu ağırlığı (g)</b>	2,00±0,56 <sup>b</sup>	2,10±0,57 <sup>a</sup>	2,23±0,65 <sup>a</sup>	2,01±0,46 <sup>ab</sup>
<b>Canlı ağırlık artışı (g) (CAA)<sup>a</sup></b>	1,59±0,54 <sup>b</sup>	1,70±0,62 <sup>ab</sup>	1,83±0,63 <sup>a</sup>	1,64±0,46 <sup>ab</sup>
<b>Spesifik büyüme oranı (SBO)<sup>b</sup></b>	1,75±0,05	1,87±0,20	1,91±0,06	1,90±0,03
<b>Yem dönüşüm oranı (FCR)<sup>c</sup></b>	0,95±0,05	0,89±0,11	0,82±0,05	0,91±0,04
<b>Yaşama oranı (%) (YO)<sup>d</sup></b>	78,57±15,72	81,90±4,59	75,71±7,96	79,52±7,87
<b>Juvenil alabalıkların büyümeye ilişkin verileri</b>				
<b>Deneme başlangıç ağırlığı (g)</b>	27,66±3,98	27,91±4,08	27,86±3,52	28,05±3,70
<b>Deneme sonu ağırlığı (g)</b>	75,98±15,87 <sup>c</sup>	79,36±9,83 <sup>b</sup>	90,73±12,19 <sup>a</sup>	90,72±12,68 <sup>a</sup>
<b>Canlı ağırlık artışı (g) (CAA)</b>	48,31±2,18 <sup>b</sup>	51,45±1,45 <sup>b</sup>	62,68±2,57 <sup>a</sup>	62,91±1,38 <sup>a</sup>
<b>Spesifik büyüme oranı (SBO)</b>	4,30±0,05 <sup>b</sup>	4,37±0,03 <sup>b</sup>	4,59±0,02 <sup>a</sup>	4,59±0,09 <sup>a</sup>
<b>Yem dönüşüm oranı (FCR)</b>	1,38±0,03 <sup>ab</sup>	1,31±0,05 <sup>a</sup>	1,14±0,10 <sup>c</sup>	1,11±0,04 <sup>c</sup>
<b>Yaşama oranı (%) (YO)</b>	96,66±0,82 <sup>b</sup>	98,09±0,82 <sup>a</sup>	99,04±0,82 <sup>a</sup>	99,52±0,82 <sup>ab</sup>

\* Aynı satırdaki farklı harfler istatistikî açıdan önemlidir ( $p < 0,05$ )

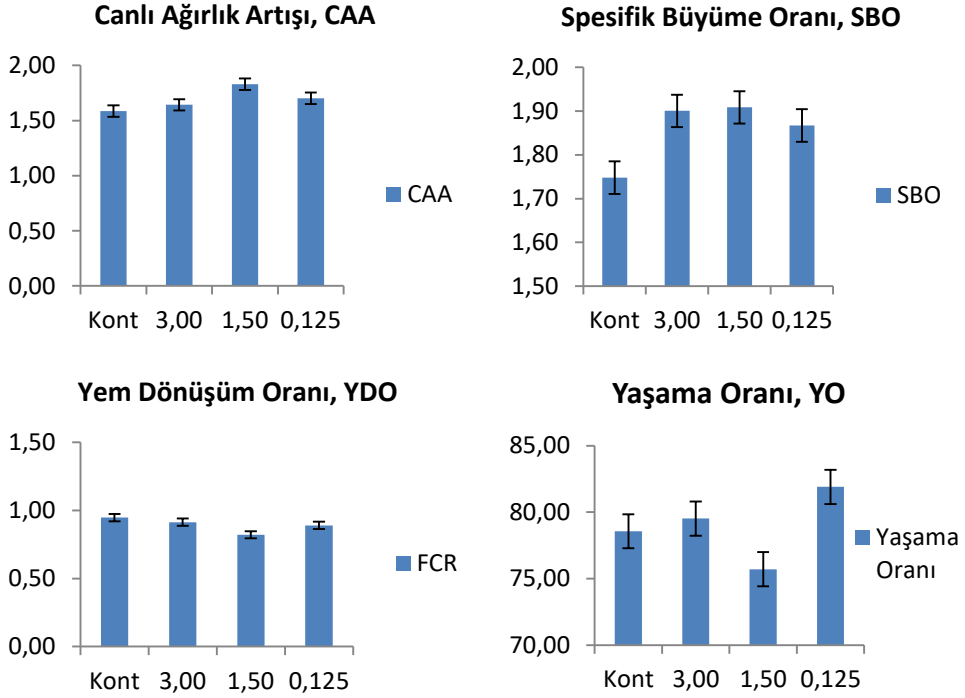
**a** Canlı Ağırlık Artışı (CAA) = Den.Sonu Ort.Ağı. - Den.Başı Ort.Ağır.

**b** Spesifik Büyüme Oranı (SBO) =  $100 \times [(\ln \text{ Son Ağır.} - \ln \text{ Baş.Ağır.}) / \text{gün sayısı}]$

**c** Yem Dönüşüm Oranı (FCR) =  $\text{Topl.Tüket.Yem Mik. (g)} / \text{Topl.kazan.Canlı Ağır.}$

**d** Yaşama Oranı (YO) =  $(\text{Deneme sonu tankta kalan balık sayısı} / \text{Deneme başı balık sayısı}) \times 100$



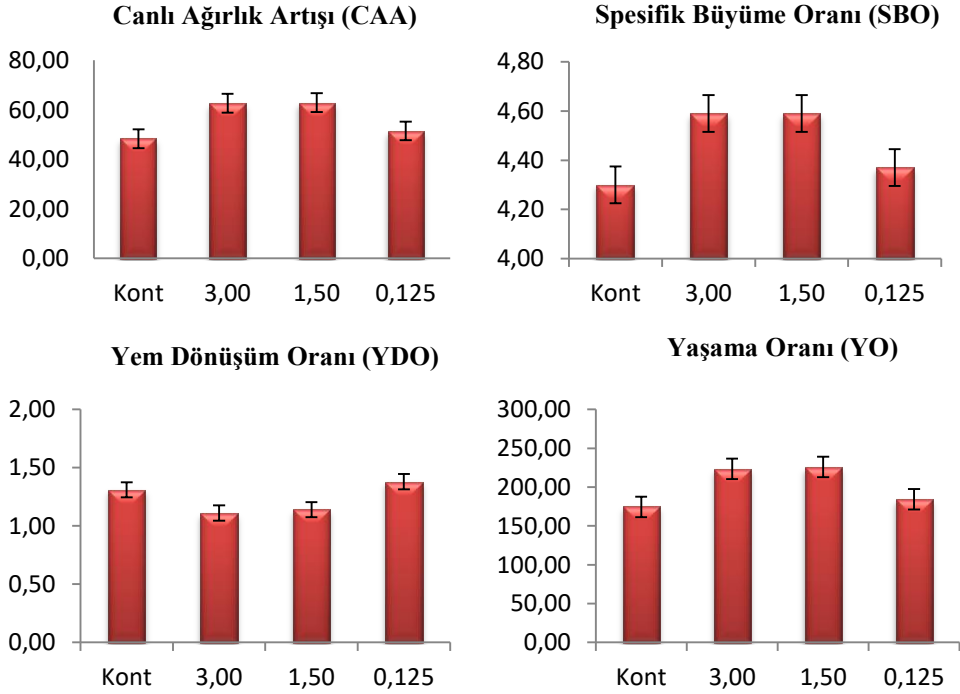


**Şekil 1.** Yavru gökkuşuğu alabalıklarında canlı ağırlık artışı (CAA), spesifik büyüme oranı (SBO), yem dönüşüm oranı (YDO) ve yaşama oranı (YO) değerleri

### **Kekik Uçucu Yağının Juvenil Gökkuşuğu Alabalıklarının Büyüme Performansı Üzerine Etkileri**

Farklı oranlarda *O. vulgare*. uçucu yağ ile beslenen juvenil gökkuşuğu alabalıklarında büyüme performansının belirlenmesi amacıyla ölçülen biyometrik parametreler Tablo 1'de verilmiştir.

*O. vulgare* ile yapılan besleme denemesinde canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yem değerlendirme oranı ve yaşama oranı bakımından 1,5 mg/kg ve 3,0 mg/kg gruplarında 0,125 mg/kg ve kontrol grubuna göre daha iyi olduğu tespit edilmiş ve gruplar arası fark önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 2.** Juvenil gökkuşuğu alabalıklarında canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranı, yaşama oranı değerleri

Denemede en iyi canlı ağırlık artışı 3,0 mg/kg grupta 62,91±1,38 g. değerle elde edilirken en düşük 48,31±2,18 g. ile kontrol grubunda elde edilmiştir. Spesifik büyüme oranı bakımından en iyi 3,0 mg/kg grupta (4,59±0,09) elde edilirken bu grubu 1,5 mg/kg (4,59±0,02) grubu izlemiş ve en düşük 4,30±0,05 ile kontrol grubunda elde edilmiştir. ( $p<0,05$ ) (Tablo 1, Şekil 2).

Yem dönüşüm oranı bakımından en iyi 3,0 mg/kg grupta (1,11±0,04) elde edilirken bu grubu 1,5 mg/kg (1,14±0,10) grubu izlemiş ve en düşük 1,38±0,05 ile kontrol grubunda elde edilmiştir. ( $p<0,05$ ) (Tablo 1, Şekil 2).

Yaşama oranı bakımından 3,0 mg/kg grup (% 99,52±0,82) ve 1,5 mg/kg grubunda (% 99,04±0,82) en iyi olduğu tespit edilirken, en düşük kontrol grubunda (% 96,66±0,82) elde edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Tablo 1, Şekil 2).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Dünyada su ürünleri sektöründe de tıbbi bitkilerin alkaloidleri, flavonoidleri, pigmentleri, fenolik içerikleri, terpenoidleri, steroidleri ve uçucu yağlarının yeme ilave edilerek kullanılması söz konusudur. Bu ürünler balık hastalıklarına direnç sağlamak üzere sentetik kimyasallara alternatif olarak görülmektedir. Ayrıca söz konusu bitkiler aktif redoks molekülleri içerdikleri için antioksidan karakterde olup, balığın genel fizyolojik durumunu iyileştirici ve enzimleri aktive edici özelliktedirler. Balıklar üzerinde yapılan *in vivo* araştırmalarda stres önleyici etkilerinin de olduğu bildirilmiştir.

Bitkisel ürünlerin kullanımı; daha kolay temin edilebilmeleri, ucuz olmaları, minimal yan etkilerinin olması, genelde düşük dozlarda etkili olabilmeleri ve patojenlere karşı

geniş spektrumlu (bakteriyal, viral, fungal, parazitik) etki göstermeleri, çevre için zararsız ve biyolojik olarak geri dönüşümlerinin olması da tercih edilme sebepleri arasındadır.

Farklı balık türlerinde bitkilerle yapılan besleme çalışmalarında, protein etkinlik oranı (PER), ve prodüktif protein değerinde (PPV) artış olması bu hipotezi desteklemektedir (Shalaby vd., 2006; Goda, 2008; Nya ve Austin 2009). Bitkisel ürünlerin gökkuşağı alabalıklarında büyüme üzerine etkisi ile ilgili çalışmalar mevcut olup, Erol-Florian vd. (2011), gökkuşağı alabalığında zencefil, sarımsak, kekik ve ekinezya bitkilerinin büyüme üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla farklı diyet hazırlamışlar (% 1 zencefil, % 1 kekik, % 2 sarımsak, % 0,5 ekinezya) ve balıklar 116 gün süresince bu yemlerle beslenmişlerdir. Beslemenin sonunda büyüme performansı için boy, ağırlık ve yem dönüşüm değerleri belirlenmiştir. Bitkisel bileşenlerle beslenen grupların ağırlık artışı ve spesifik büyüme oranı kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. En iyi ağırlık artışının kekik ilaveli yemle beslenen grupta, en iyi spesifik büyüme oranı ise ekinezya ile beslenen grupta olduğu bulunmuştur. Yem dönüşüm değerlerine (FCR) bakıldığında bitkisel ürünlerle beslenen gruplarda kontrol grubuna göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Yılmaz vd. (2012), levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) yeme ilave edilen biberiye (*Rosmarinus officinalis*), kekik (*Thymus vulgaris*) ve çemen otunun (*Trigonella foenum graecum*) büyüme üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu amaçla *R. officinalis* (%1), *T. vulgaris* (%1), *T. foenum graecum* (%1) içerikli farklı yemler hazırlamışlar ve balıkları 45 gün süresince bu yemlerle beslemişlerdir. Beslemenin sonunda büyüme performansı için boy, ağırlık ve yem dönüşüm değerleri tespit edilmiştir. Ağırlık artışı bitkisel bileşenlerle beslenen tüm gruplarda kontrol grubuna göre yüksek iken, spesifik büyüme oranı sadece *T. vulgaris* ilaveli yemle beslenen grupta yüksektir. FCR ise kontrol grubuna göre sadece *T. vulgaris* ilaveli yemle beslenen grupta düşük olduğu bulunmuştur. Volpatti vd. (2013) levrek balıklarında balık yağına ilave edilmiş saf karvakrol ile hazırladıkları yem ile 9 hafta %0,025 ve %0,05 oranlarında besledikleri balıkların büyüme performansı üzerine etkisinin olmadığını belirlenmiştir.

Giannenas vd. (2012), ort. 113 g.lık gökkuşağı alabalıklarında yeme ilave edilen karvakrol ve timol bileşenlerinin büyüme üzerine etkisi incelenmiştir. Bu amaçla 3 farklı diyet hazırlamışlar (negatif kontrol, 6,0 g/kg karvakrol, 12,0 g/kg timol) ve balıklar 8 hafta süresince bu yemlerle beslenmişlerdir. Beslemenin sonunda büyüme performansı için ağırlık kazancı, yem alımı ve yem dönüşüm değerleri tespit edilmiştir. Timol ilaveli yemle beslenen grupta ağırlık kazancı değerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu tespit edilmişken yem alımı ve yem dönüşüm değerlerinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Karvakrol ilaveli yemle beslenen gruplarda ise büyüme parametrelerinde herhangi bir artışın olmadığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada *O. vulgare* L. uçucu yağı ile yapılan juvenil gökkuşağı alabalıklarında yapılan besleme denemesinde en iyi canlı ağırlık artışı, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm (FCR) oranı 3,0 mg/kg ve 1,5 mg/kg gruplarında olduğu büyüme üzerinde etkili olduğu tespit edilirken, kontrol ve 0,125 mg/kg gruplarında ise büyüme üzerinde etkili olmadığı tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). *O. vulgare* uçucu yağı ile yapılan yavru gökkuşağı alabalıklarında yapılan besleme denemesinde en iyi canlı ağırlık artışı 1,5 mg/kg grubunda ( $1,83\pm0,63$ ) elde edilirken, en düşük kontrol grubunda ( $1,59\pm0,54$ ) elde edilirken ( $p<0,05$ ), 0,125 mg/kg grup ile 3,0 mg/kg grup arasında önemli bir fark görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

*O. vulgare* Akdeniz bölgesinde yaygın olarak bulunan tıbbi bitkilerdendir. Gökkuşuğu alabalıklarında *O. vulgare* bitki türünden elde edilen uçucu yağının, yavru ve juvenil alabalıklarda büyüme performansı etkisinin incelendiği bu çalışmada; yemlerine ilave edilen uçucu yağların yavru alabalıklarda değil ama juvenil alabalıklarda iştah artışı sağladığı, büyüme parametrelerini artırdığı ve 1,5-3,0 mg/kg oranında yemlere ilave edilebileceği elde edilen verilerden yola çıkılarak ifade edilebilir. Uçucu yağlardan zengin olan bu bitkisel ürünlerin antimikrobiyal ve antioksidan özellikleri ayrıca belirli dozlarda büyüme performansını olumlu etkileri neticesinde su ürünleri üretiminde prebiyotik benzeri etki yapan bir alternatif yem katkı maddesi olarak kullanılabilir. Uçucu yağların balıkta büyümeyi artırıcı etkileri, balık bağırsağındaki patojen bakteri popülasyonunun güçlü inhibisyonu sonucu olabileceği ayrıca gastrointestinal sisteme ait hücrelerin kalitatif ve kantitatif histofizyolojik özelliklerinin balıktaki büyüme performansını olumlu etkileyebilme ihtimali göz önüne alındığında bu konuda daha ileri bakteriyel mikroflora araştırmaların yapılması yararlı olacaktır. Ayrıca *O. vulgare* L. uçucu yağı ile ilgili profilaktif uygulamalar için optimum uygulama sürelerinin tespit edilebilmesi için detaylı araştırmaların desteklenmesi önerilmektedir.

### Teşekkür

Yüksek lisans tezinden özetlenen bu çalışmayı destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (Proje no: 798 – YL1 - 13) teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

- Ahilan, B., Nithiyapriyatharshini, A., Ravaneshwaran, K. 2010. Influence of Certain Herbal Additives on the Growth, Survival and Disease Resistance of Goldfish, *Carassius auratus* (Linnaeus), Tamilnadu Journal of Veterinary and Animal Sciences, 6(1), 5- 11.
- Aly, S.M., Atti, N.M.A., Mohamed, M.F. 2008. Effect of Garlic on the Survival, Growth, Resistance and Quality of *Oreochromis niloticus*, 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 277-296.
- Athanassopoulou, F., Karagouni, E., Dotsika, E., Ragias, V., Tavla, J., Christofilloyanis, P., Vatsos, I. 2004. Efficiency and Toxicity of Orally Administered Anti-coccidial Drugs for Innovative Treatments of *Myxobolus* sp. Infection in *Puntazzo puntazzo*. Diseases of Aquatic Organisms, Vol. 62, 217-226.
- Başer, K.H.C. 2000. Uçucu Yağların Parlak Geleceği, TAB (Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni), 15, 20-23.
- Başer, K.H.C. 2002. The Turkish Origanum Species, Oregano, The Genera Origanum and Lippia. Editör: Kintzios, S.E. London: Taylor and Francis.
- Çetinkaya, O. 1995. "Balık Besleme, Ders Kitabı", Van Yüzüncü Yıl Üniv. Zir. Fak., Yayın No:9, s.137.
- De Silva, S.S., Anderson, T.A. 1995. "Fish Nutrition in Aquaculture", Chapman and Hall, London, pp:319.
- Dığrak, M., Bağcı, E., Alma, M.H. 2002. Antibiotic Action of Seed Lipids from Five Tree Species Grown in Turkey. Pharmaceutical Biology, 40(6), 425-428.
- Ekici, S., Diler, Ö., Didinen, B. I., Kubilay, A. 2011. Balıklardan İzole Edilen Bakteriyel Patojenlere Karşı Bazı Bitkisel Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktivitesi. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 17(suppl. A),547-554.
- Erol-Florian, G., Şara, A., Molnar, F., Bençea, M. 2011. The Influence of Some Phytoadditives on Growth Performances and Meat Quality in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Animal Science and Biotechnologies, 44(2), 13-18.

- Giannenas, I., Triantafillou, El., Stavrakakis, S., Margaroni, M., Mavridis, M., Steiner, T., Karagouni, E., 2012. Assessment of Yemary Supplementation with Carvacrol or Thymol Containing Feed Additives on Performance, Intestinal Microbiota and Antioxidant Status of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 350-353, 26-32.
- Goda, A.M.A.S. 2008. Effect of Yemary Ginseng Herb (Ginsana G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization and Hematological Indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) Fingerlings. *Journal of The World Aquaculture Society*, 39, 205-214.
- Goddard, S. 1996. *Feed Management in Intensive Aquaculture*, Chapman and Hall Press, USA, 194 p.
- Görmez, Ö. 2012. *Saprolegnia* Türlerine Karşı Bazı Tıbbi Bitkilerin Esansiyel Yağlarının Antifungal Aktivitesi. S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 82s.
- Hammer, K. A., Carson, C. F., Riley, T. V. 1999. Antimicrobial Activity of Essential Oils and Other Plant Extracts. *Journal of Applied Microbiology* 86, 985-99.
- Immanuel, G., Uma, R.P., Iyapparaj, P., Citarasu, T., Punitha Peter, S.M., Michael Babu, M., Palavesam, A. 2009. Yemary Medicinal Plant Extracts Improve Growth, Immune Activity and Survival of Tilapia *Oreochromis mossambicus*, *Journal of Fish Biology*, 74, 1462-1475.
- Kahraman, Z. 2009. Bitkisel Yem Katkı Maddelerinin Yumurta Tavuğu Yemlerinde Kullanımı, *Tavukçuluk Araştırma Dergisi*, 8(1), 34-41.
- Karakaya, E. 2003. *Chenopodium botrys* Türü Üzerinde Fitokimyasal Araştırmalar. M. U. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 127s.
- Kıvanç, M., Akgül, A. 1986. Antibacterial Activities of Essential Oils from Turkish Species and Citrus. *Flavour and Fragrance Journal*, 1, 175-179.
- Nya, E.J., Austin, B. 2009. Use of Garlic (*Allium sativum*) to Control *Aeromonas hydrophila* Infections in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 32(11), 963-970.
- Oflaz, S., Kürkcüoğlu, M., Başer, K. H. C. 2004. *Origanum onites* ve *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* Üzerinde Farmakognozik Araştırmalar. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Kitabı, 252-258.
- Oskoi, S.B., Kohyani, A.T., Parseh, A., Salati, A.P., Sadeghi, E. 2012. Effects of Yemary Administration of *Echinacea purpurea* on Growth Indices and Biochemical and Hematological Indices in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Fingerlings. *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(4), 1029-1034.
- Özdamar, K. 2001, Tıp Biyoloji Eczacılık ve Diş Hekimliği Öğrencileri için SPSS ile Biyoistatistik. jan Kitabevi, 452 s.
- Özgüven, M., Sekin, S., Gürbüz, B., Şekeroğlu, N., Ayanoğlu, F., Erken, S. 2005. Tütün, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimi ve Ticareti. Türkiye Ziraat Mühendisleri VI. Teknik Kongresi.
- Rahman, T., Akanda, M.M.R., Rahman, M.M., Chowdhury, M.B.R. 2009. Evaluation of the Efficacies of Selected Antibiotics and Medicinal Plants on Common Bacterial Fish Pathogens. *J. Bangladesh Agril. Univ.*, 7(1), 163-168.
- Shalaby, A.M., Khattab, Y.A., Abdel Rahman, A.M. 2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and Chloramphenicol on Growth Performance, Physiological Parameters and Survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *The Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*. 12(2), 172-201.
- Şimşek, Ü.G., Güler, T., Çiftçi, M., Ertas, O.N., Dalkılıç, B. 2005. Esans Yağ Karışımının (Kekik, Karanfil ve Anason) Broylerlerde Canlı Ağırlık, Karkas ve Etlerin Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi. *YYÜ Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(2), 1-5.
- TÜİK, 2014. <http://www.tuik.gov.tr>. Son Erişim Tarihi 07.12.2015.
- Volpatti, D., Chiara, B., Francesca, T., Marco, G. 2013. Growth Parameters, Innate Immune Response and Resistance to *Listonella (Vibrio) anguillarum* of *Dicentrarchus labrax* Fed Carvacrol Supplemented Yems. *Aquaculture Research*, 45(1), 31-44.

- Yılmaz, S., Ergün, S., Çelik, E.Ş. 2012. Effects of Herbal Supplements on Growth Performance of Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*): Change in Body Composition and Some Blood Parameters, Journal of BioScience and Biotechnology, 1(3), 217-222.
- Yiğitarıslan, K.D., Azdural, K., Yavuz, U., Turan, F. 2011. Alabalıklarda Fitoterapi Uygulamaları. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 4 (1), 63-68.
- Zheng Z. L., Justin Y. W., Tan H. Liu Y. 2009. Evaluation of Oregano Essential Oil (*Origanum heracleoticum* L.) on Growth, Antioxidant Effect and Resistance against *Aeromonas hydrophila* in Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*) Doi:10.1016/J.Aquaculture., 292, 214-218.

## First Record of the Ciliate *Praethecacineteta halacari* (Ciliophora: Suctorea) Epibiont on *Copidognathus* Halacarid Mite from Portugal

Furkan DURUCAN\*, Yunus Ömer BOYACI

Süleyman Demirel University, Faculty of Fisheries, Department of Basic Science, Isparta, TURKEY

Geliş : 15.12.2015

Kabul : 11.04.2016

**Research Article / Araştırma Makalesi**

\*Corresponding Author: f\_durucan@hotmail.com

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Abstract

The present study report a first record of the marine suctorian species *Praethecacineteta halacari* (Schulz,1933) on a *Copidognathus* sp. collected from Algarve region of Albufeira coast, Portugal.

*Key words:* *Praethecacineteta halacari*, *Copidognathus* sp., suctorian ciliate, Portugal

### *Copidognathus* Cinsi Üzerinde Epibiont *Praethecacineteta halacari* (Ciliophora: Suctorea) Siliyatının Portekiz'den İlk Kaydı

#### Özet

Bu çalışmada, Portekiz'in Algarve bölgesindeki Albufeira kıyılarından *Copidognathus* sp. cinsi üzerinde tespit edilen deniz suctorian'larından *Praethecacineteta halacari* (Schulz,1933)' nin Portekiz'den ilk kaydı rapor edilmiştir.

*Anahtar kelimeler:* *Praethecacineteta halacari*, *Copidognathus* sp., suctorian siliyat, Portekiz

## INTRODUCTION

*Thalassarachna basteri* (Johnston, 1836) is first halacarid mite which is described by Johnston also was the first mentioned host of a suctorian and then, two suctorian (*Vorticella* sp. and *Acineta* sp.) was found on this mite by Gosse in 1855. Since those days several more records of suctorians on halacarid mites have been published but still the number of species is limited. Suctorian ciliates present both marine and fresh water. They inhabit both anorganic and organic material, plants and animals and feed microalgae and other ciliates. Several species of suctorian ciliates are common epibionts of benthic marine and interstitial invertebrates. Marine and fresh water mites have been identified as hosts of suctorian ciliates which may be commensals, ecto - or endoparasites. A number of suctorian ciliates have been observed as epibionts on various halacarid mites and other invertebrates. Most records are from shallow waters. A deep – sea record of an epibiont on Halacaridae is from the Mid- Atlantic Ridge, Snake Pit, 3500 m (Dovgal et al., 2008; Dovgal et al., 2009; Bartsch and Dovgal, 2010).

While studying on halacarid mites in Praia da Falésia, Albufeira, Portugal we found this suctorian ciliates which are reported here for the first time from Portugal.

## MATERIALS and METHODS

The halacarid mite genus, *Copidognathus* sp., which is the most rich genus in the halacaridae family, with suctorians (4 individuals) were collected from Praia da Falésia, Albufeira, South - West of Portugal (Atlantic Ocean) (37° 05' 01" N, 8° 13' 49" W), among intertidal coralline algae (Figure 1). The samples were sorted at the University of Algarve, CCMAR, Ecology and Restoration of Estuarine and Coastal Habitats laboratory, Faro, Portugal. For microscopical studies of halacarid mites and the suctorian species were identified in University of Suleyman Demirel, Fisheries Faculty, Ecology and Limnology Laboratory, Isparta, Turkey.

## RESULTS and DISCUSSION

### Systematics

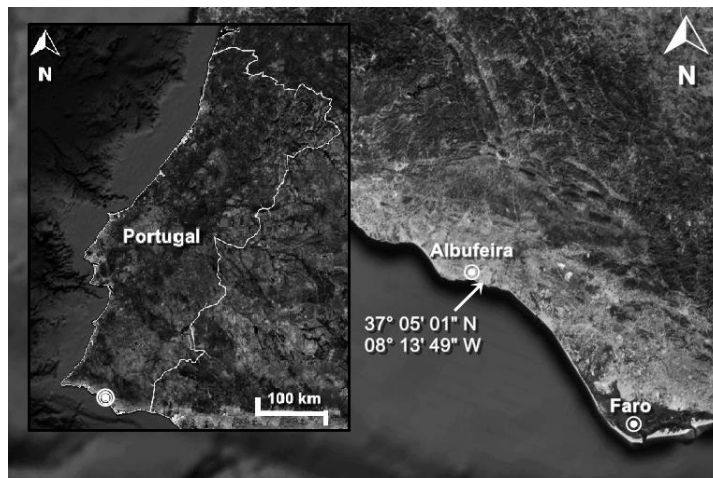
Class SUCTOREA Claparede et Lachmann, 1858  
 Subclass EXOGENIA Collin, 1912  
 Order METACINETIDA Jankowski, 1978  
 Family PRAETHECACINETIDAE Dovgal, 1996  
*Praethecacineta halacari* (Schulz, 1933)

### Material Examined

Four individuals of *Praethecacineta halacari* suctorian ciliates were attached to ventral side of *Copidognathus* sp. All ciliates are attached to ventral side of the *Copidognathus* sp. halacarid mite. 3 of them found around the genitoanal plate region of mite. 1 of them attached to third leg of the mite.

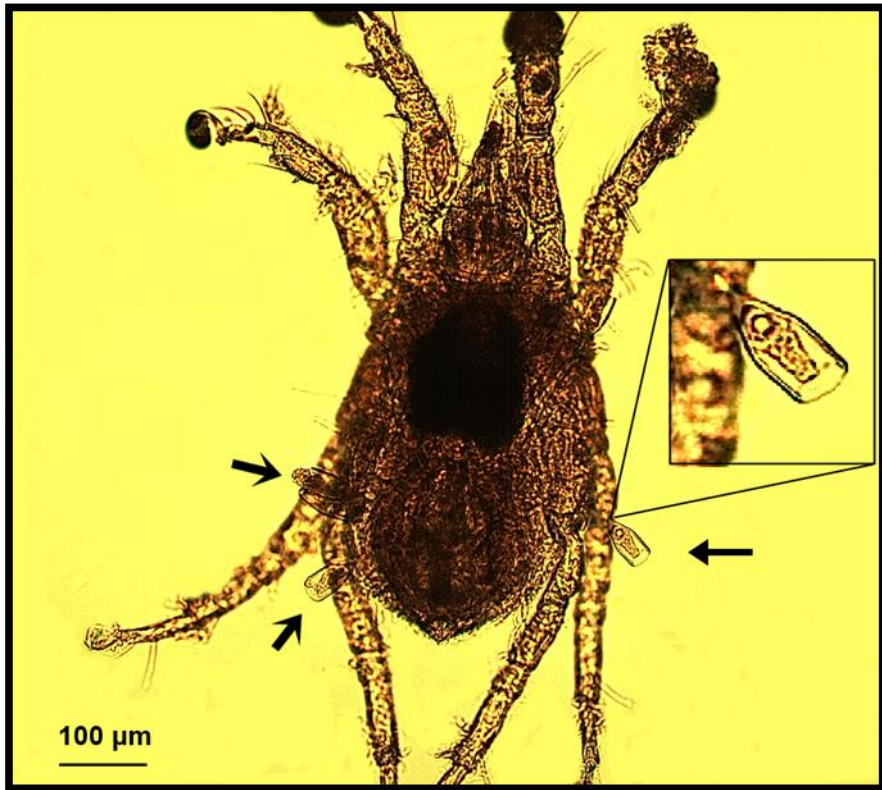
### Diagnosis

Marine suctorians with stylothecca. Cell body slightly laterally flattened entirely filling the lorica and attached to its posterior margin. Apical part of the body narrowed. Macronucleus spherical, posteriorly located. Stylothecca smooth, without ribbing (Dovgal et al., 2008; 2009).



**Figure 1.** Map of the study area showing the sampling station.





**Figure 2.** Ventral view of posterior part of *Copidognathus* sp. with *P.halacari* marked with on arrows

### **Distrubition of *Praethecacineta halacari***

Bulgaria and Ukraine (Black Sea), Norwegian coast (Tromsø), Kiel Bay of North Sea, Caspian Sea, Western Australia, Atlantic coast of Brazil, west coast of India (Arabian Sea), Taiwan, Tanzania, Canada (Dovgal et al. 2009) and South West of Portugal, Praia da Falésia, Albufeira (present report).

### **Host Specificity**

*P. halacari* were found attached to *Copidognathus* sp. The host, *Copidognathus*, the largest halacarid genus comprises ¼ of all halacarid species.

### **Acknowledgements**

Special thanks are due to Dr. Pedro Range and all ECOREACH laboratory personel for their kind support first author's field work and training activities at CCMAR, Universidade do Algarve, Portugal. Thanks are due to Dr. Igor Dovgal (National Academy of Sciences of Ukraine) for taxonomic identification of *P.halacari*.

## REFERENCES

- Bartsch, I., Dovgal, I.V. 2010. A Hydrothermal Vent Mite (Halacaridae, Acari) with a New *Corynophrya* Species (Suctoria, Ciliophora), Description of the Suctorian and its Distribution on the Halacarid Mite. *Protistology*, 46, 196-203.
- Dovgal, I.V., 2002. Evolution, Phylogeny and Classification of Suctorea (Ciliophora). *Protistology*, 2, 194–270.
- Dovgal, I.V. Chatterjee, T., Ingole, B. 2008. An Overview of Suctorian Ciliates (Ciliophora, Suctorea) as Epibionts of Halacarid Mites (Acari, Halacaridae). *Zootaxa*, 1810, 60–68.
- Dovgal, I.V., Chatterjee, T., Subba Rao, D.V., Chan, B.K.K., De Troch, M. 2009. New Records of *Praethecacineta halacari* (Schulz) (Suctorea: Ciliophora) from Taiwan, Tanzania and Canada. *Marine Biodiversity Records*, 2, 1-3.

## Mersin İlinde Tüketime Sunulan Kabuklu ve Yumuşakça Türlerinin Kas Dokularında Ağır Metal Düzeyleri

Cengiz KORKMAZ<sup>1\*</sup>, Özcan AY<sup>2</sup>, Çoşkun ÇOLAKFAKIOĞLU<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü, Mersin

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Temel Bilimleri Bölümü, Mersin

Geliş : 02.03.2016

Kabul : 03.05.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*Sorumlu Yazar: cngzkrkmz@hotmail.com

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 – 7517

### Özet

Bu çalışma kapsamında Mersin ilinde tüketime sunulan kalamar (*Loligo vulgaris*), sübye (*Sepia officinalis*) ve karides (*Penaeus semisulcatus*) türlerinin tüketilebilir kas dokuları Cr (toplam), Mn, Ni, As (toplam) ve Sn içerikleri yönünden incelenmiştir. Doku örneklerinde metal analizi İndüktif olarak eşleştirilmiş plazma-kütle spektrofotometresi (ICP-MS) sistemi ile belirlenmiştir. Doku örneklerinde Cr (toplam), Mn, Ni, As (toplam) ve Sn derişimleri sırasıyla 0,05-2,23, 0,07-1,13, 0,01-0,81, 3,03-45,09 ve 0,02-1,32 mg/kg yaş ağırlık (y.a.) olacak şekilde değişiklik göstermiştir. Cr derişimleri *P. semisulcatus* örneklerinin tümünde tespit edilebilir limitlerin altında bulunmuştur. Tüm örneklerde ortalama metal derişimlerinin, tolere edilebilir günlük ve haftalık limitlerin altında olduğu ve insan tüketimi açısından sorun teşkil etmeyeceği kanısına varılmıştır. Fakat, *S. officinalis* türünde inorganik arsenik içeriğinin referans değerlere oldukça yakın olduğu ve yüksek miktarlarda ve rutin tüketilmesi durumunda insan sağlığı açısından sorunlar teşkil edebileceği düşünülmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Su ürünleri, ağır metal, gıda güvenliği, yumuşakçalar, kabuklular

### Heavy Metal Levels in Muscles Tissues of Some Marketed Crustacean and Molluscs species, in Mersin

#### Abstract

The study was carried out to determine the levels of Cr (total), Mn, Ni, As (total) and Sn in squid (*Loligo vulgaris*), cuttlefish (*Sepia officinalis*) and shrimp (*Penaeus semisulcatus*) from the markets of Mersin, Turkey. Metal analysis of the tissue samples were carried out using ICP-MS system. Cr (total), Mn, Ni, As (total) and Sn in tissue samples ranged between 0.05-2.23, 0.07-1.13, 0.01-0.81, 3.03-45.09 and 0.02-1.32 mg kg<sup>-1</sup> wet weight (w.w.), respectively. Cr concentrations were found below the detectible limits in all *P.semisulcatus* samples. Avarage metal concentrations in all samples were found lower than the provisional tolerable daily and weekly intake levels (PTDI, PTWI) and seemes no risks for human consumption. But for *S. officinalis*, inorganic As levels found quite close the reference limit's and can cause health problems to consumers, in routine and excess amounts of consumption.

**Keywords:** Seafood, heavy metal, food safety, molluscs, crustaceans

## GİRİŞ

Sucul canlılar dünyada birçok insan tarafından önemli bir protein kaynağı olarak görülmekte ve içerdikleri düşük doymuş yağ asitleri ve besleyici elementlerin varlığı nedeniyle tüketimleri hızla artmaktadır (Burger ve Gochfeld, 2005; Ikem ve Egiebor, 2005). 1960'lı yıllarda, dünyada 9,9 kg olan kişi başı yıllık sucul canlı tüketimi son 50 yılda yaklaşık olarak %100 artmış ve 2012 yılında 19,2 kg düzeylerine ulaşmıştır (FAO, 2014). Beslenme uzmanları ve diyetisyenler, sucul besinlerin yüksek omega-3 (n-3) içerikleri ve bazı elementlerin varlığı nedeniyle kalp krizi, felç gibi hastalık risklerini azaltmaya

yardımcı olduklarını bu yüzden düzenli olarak tüketilmesi gerektiğini belirtmektedirler (Cirillo vd., 2010). Fakat hayvansal kaynaklı besinlerin arasında sucul canlıların, kimyasal kirleticilerin etkisine daha açık olduğu ve bu kirleticileri daha yüksek derişimlerde biriktirebildikleri de bilinmektedir (Järup, 2003).

İnorganik ksenobiyotiklerin arasında, insanlar için en önemli tehdidi ağır metaller oluşturmaktadır (Järup, 2003; Bettini vd., 2006). Ağır metaller sucul ekosistemlerde doğal olarak bulunmakta ve sudaki derişimleri antropojenik faktörlerin etkisiyle artabilmektedir (Dyer, 2007; Ebrahimi ve Taherianfard, 2011). Sucul ortamlarda, çözülmüş yada süspansiyon halinde bulunabilmekte, sedimente çökebilme yada sucul canlılar tarafından alınarak, besin zinciri aracılığıyla insanlara kadar taşınarak birikebilmektedirler (Levesque vd., 2002; Cirillo vd., 2010). Canlı dokulara yüksek bağlanma özelliği gösterirler ve vücuttan atılmaları son derece yavaştır (Miedico vd., 2015). Krom ( $Cr^{+3}$ ), demir (Fe), bakır (Cu) ve manganez (Mn) gibi ağır metaller canlı organizmalarda birçok biyokimyasal olayın ve enzim aktivasyonunun gerçekleşmesi amacıyla esansiyel olarak bulunurlarken, nikel (Ni), krom ( $Cr^{+6}$ ), kalay (Sn) cıva (Hg), kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) gibi ağır metaller normal şartlarda canlı organizmalarda bulunmazlar (Odzak vd., 2000).

Ağır metaller, nörolojik, nefrolojik, immünolojik birçok etkiye sahip olan, endokrin sistemi bozan, karsinojenik ve teratojenik etkiler gösterebilen kimyasal ajanlardır (Cirillo vd., 2010). Örneğin, nikelin dolaşım ve kardiyovasküler sisteme etki ederek hepatik, renal, nörolojik ve immünolojik hasarlara neden olabileceği rapor edilmiştir. Krom (III)'ün memelilerde anormal enzim aktivitesi, hematolojik parametrelerde değişimlere ve immün sistemin baskılanmasına sebebiyet verebileceği belirtilmiştir. Arseniğin plasenta bariyerini aşarak fetüs ölümüne neden olduğu, nörolojik, karsinojenik ve mutajenik etki gösterdiği, kalayın ise büyüme ve üreme sisteminde gerilemelere sebebiyet verebileceği bildirilmiştir (Eisler, 2000). Yüksek derişimlerde manganezin (Mn) ise genellikle karaciğerde metabolize olmadan beyin dokularına geçtiği, titreme, yürümede zorluk ve yüz spazmlarına neden olabileceği rapor edilmiştir (ATSDR, 2001).

Yumuşakçalar ve kabuklular gibi sucul canlılar, yaşamlarının tüm evrelerinde kimyasal kirleticilerin etkisi altındadırlar (Ikem ve Egiebor, 2005). Bunun yanı sıra ağır metal toksisitenin belirlenmesinde biyoindikatör ve biyomonitör canlılar olarak kabul edilirler (Lau vd., 1998; Jimoh vd., 2011). Sucul ekosistemlerde yaygın olarak bulunurlar ve kolaylıkla örneklenebilirler. Birçok kirleticiye özellikle ağır metallere yüksek tolerans gösterebilir ve bu maddeleri yüksek oranda biriktirebilirler (Lau vd., 1998).

Dünyanın birçok bölgesinde besin kalitesinin belli sınırlar içerisinde tutulabilmesi ve "gıda güvenliği" kavramı araştırmacıların önem verdiği konuların başında gelmektedir. Toksik maddelerin besin maddelerinde bulunma oranları ve insan sağlığı üzerine etkileri son yıllardaki araştırmalarda giderek önem kazanmaktadır (Khansari vd., 2005). Yukarıda anılan nedenlerden dolayı bu çalışmada, Mersin ilinde tüketime sunulan ve ekonomik değeri yüksek olan türlerden kalamar (*L. vulgaris*), sübye (*S. officinalis*) ve karideste (*P. semisulcatus*) bazı ağır metallerin derişim düzeyleri tespit edilmeye çalışılmıştır. Farklı satış noktalarından elde edilen türlerin insanlar tarafından tüketilen kas kısımları örneklenerek Cr (toplam), Mn, Ni, As (toplam) ve Sn içerikleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistikî analiz sonrası metallerin tolare edilebilir üst limitleri ile içerdikleri metal derişimleri bakımından karşılaştırılarak, insan tüketimi açısından kabul edilebilir sınırlarda olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışmada materyal olarak Mersin İli'nde bulunan ve Mersin Balık Hali'ni de kapsayan 3 büyük balık satış noktasından 2015 Eylül-Ekim ayları boyunca elde edilen *L. vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türleri rastgele örnekleme metoduna göre temin edilmiştir. Deneysel materyallerin boy ve ağırlıklarına ilişkin veriler Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Deneysel materyallerin boy-ağırlık ilişkisi.

n=18	<i>L. vulgaris</i>		<i>S. officinalis</i>		<i>P. semisulcatus</i>	
	Ağırlık (gr)	Boy (cm)	Ağırlık (gr)	Boy (cm)	Ağırlık (gr)	Boy (cm)
	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$
<b>satış noktası (1)</b>	126,57±14,8	24,63±0,15	56,65±10,4	11,63±1,18	18,09±1,3	14,33±0,05
<b>satış noktası (2)</b>	135,56±28,9	25,56±1,75	68,44±1,3	8,30±0,36	18,24±4,6	14,46±1,66
<b>satış noktası (3)</b>	112,93±11,7	25,10±1,44	173,02±48,2	16,46±0,89	24,19±3,0	15,93±0,77

\*  $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama  $\pm$  Standart hata n=İstasyon başına toplam örnek sayısı

Çalışma kapsamında satış noktalarından elde edilen örneklerin tüketilebilir kas dokuları disekte edilmiş ve -20 °C'de analizler başlayana kadar stoklanmıştır. Her noktadan 18, toplamda 54 adet örnek analiz edilmiştir. Örnekler, analiz öncesi petri kutularına konularak, 150 °C'de 72 saat süre ile kurutulularak sabit tartıma hazır hale getirilmiştir. Kas örnekleri, kuru ağırlıkları hassas terazi ile tespit edildikten sonra deney tüplerine aktarılmış ve örneklerin her birinin üzerine 2 ml nitrik asit (HNO<sub>3</sub>, % 65, Ö.A.: 1,40, Merck) ve 1 ml perklorik asit (HClO<sub>4</sub>, % 60, Ö.A.: 1,53, Merck) karışımı eklenerek 120°C'de 8 saat süreyle yakılmıştır. Yakımı tamamlanan örnekler, kapaklı polietilen tüplere aktarılmış ve üzerlerine, 10 ml'ye tamamlanincaya kadar deiyonize su eklenerek analize hazır hale getirilmiştir (Muramoto, 1983). Aynı işlemler içerisinde doku örneği bulunmayan boş numuneler içinde uygulanmıştır. Doku örneklerinde metal derişimleri Agilent 7500ce (Octopole Reaction Sistemleri, Agilent Teknolojileri, Japonya) model ICP-MS sistemi kullanılarak tespit edilmiştir. ICP-MS sisteminin çalışma koşulları Tablo 2'de görülmektedir.

Ağır metal içerikleri belirlenen örneklerin istatistiksel analizi SPSS 16.0 paket programı ile varyans analizi ve "Student – Newman Keul's (SNK)" testleri uygulanarak yapılmıştır.

Sonuçlar kuru ağırlık cinsinden hesaplanmış, daha önceki çalışmalar ile karşılaştırma yapmak amacıyla mg/kg yaş ağırlık (y.a.) değerlerine dönüşümleri yapılmıştır. Yaş ağırlık dönüşümü sırasında, yumuşakçaların ve kabukluların kas dokularında su miktarının yaklaşık %80 olması nedeniyle (Pandit ve Magar, 1972; Karakoltsidis vd., 1995), dönüştürme katsayısı olarak 0,2 kullanılmıştır (El-Moselhy vd., 2014). Örnekler üç tekrarlı analiz edilmiştir. Geri kazanım çalışmaları amacıyla metal içeriği bilinen örnekler

hazırlanmış ve Cr, Mn, Ni, As, ve Sn'in geri kazanım yüzdelerinin sırasıyla 99,64 %, 87,74 %, 91,79 %, 99,5 % ve 96,07 % olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaya ait doğrulama parametreleri Tablo 3'de görülmektedir.

**Tablo 2** ICP-MS çalışma koşulları

RF gücü	1500 W
Plazma gaz akış hızı	15 L dak <sup>-1</sup>
Yardımcı gaz akış hızı	1 L dak <sup>-1</sup>
Taşıyıcı gaz akış hızı	1,1 L dak <sup>-1</sup>
Helyum çarpışma gaz akış hızı	mL/dak (Kullanılmamıştır)
T bölmesi spreyi	2 °C
Örnek derinliği	8,6 mm
Örnek besleme akış hızı	1 mL dak <sup>-1</sup>
Nebulizatör pompası	0,1 rps

**Tablo 3.** Çalışmaya ait doğrulama parametreleri

Analyte	LOD (ng g <sup>-1</sup> )	LOQ (ng g <sup>-1</sup> )	RSDr %	R <sup>2</sup>
Cr	1,14	3,81	2,44	0,9999
Mn	0,23	0,78	3,28	0,9999
Ni	0,68	2,26	1,51	1
As	0,51	1,71	2,35	1
Sn	0,44	1,47	2,89	1

## BULGULAR

Yapılan analizler sonucunda tüm örneklerde Cr, Mn, Ni, As ve Sn derişimlerinin sırasıyla 0,05-2,23, 0,07-1,13, 0,01-0,81, 3,03-45,09 ve 0,02-1,32 mg/kg y.a arasında değişiklik gösterdiği tespit edilmiştir. Cr derişimleri *P. semisulcatus* örneklerinin tümünde tespit edilebilir limitlerin altında bulunmuştur.

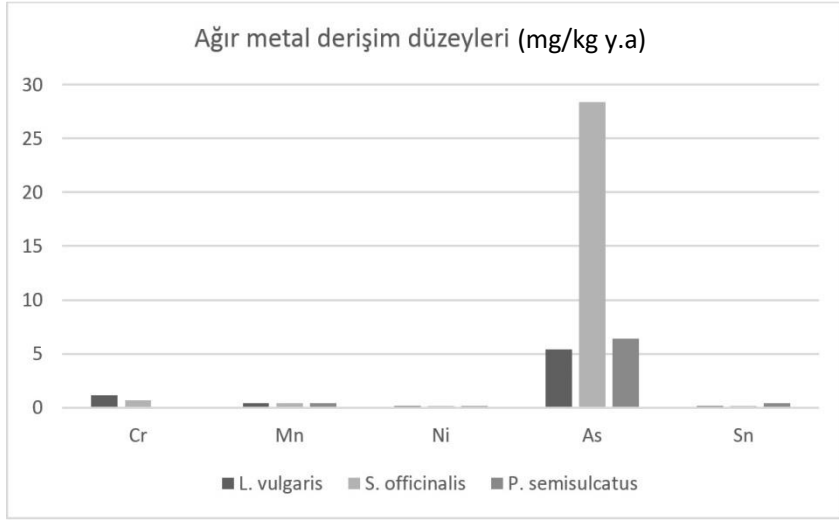
*L. vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* örneklerinin kas dokularına ait ortalama ağır metal derişim düzeyleri Tablo 4 ve Şekil 1'de görülmektedir.

**Tablo 4.** *L. vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* örneklerinin kas dokularında, ağır metal derişim düzeyleri (mg/kg y.a)

	Cr	Mn	Ni	As	Sn
n(t) 54	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$ (Alt-üst sınır)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$ (Alt-üst sınır)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$ (Alt-üst sınır)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$ (Alt-üst sınır)	$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}^*$ (Alt-üst sınır)
<i>L. vulgaris</i>	1,17 <sup>a</sup> ±0,59 (0,05-2,23)	0,44 <sup>bx</sup> ±0,26 (0,07-1,08)	0,14 <sup>bx</sup> ±0,09 (0,04-0,29)	5,43 <sup>cx</sup> ±1,09 (3,47-7,10)	0,14 <sup>bx</sup> ±0,09 (0,02-0,31)
<i>S. officinalis</i>	0,67 <sup>a</sup> ±0,52 (0,10-1,71)	0,44 <sup>ax</sup> ±0,29 (0,10-1,09)	0,19 <sup>ax</sup> ±0,23 (0,01-0,81)	28,37 <sup>by</sup> ±9,68 (10,87-45,09)	0,17 <sup>ax</sup> ±0,21 (0,05-0,92)
<i>P. semisulcatus</i>	TE*	0,42 <sup>ax</sup> ±0,28 (0,12-1,13)	0,18 <sup>ax</sup> ±0,13 (0,05-0,63)	6,40 <sup>bx</sup> ±3,36 (3,03-13,30)	0,46 <sup>ay</sup> ±0,37 (0,11-1,32)

\* SNK; a,b, c metalller arası, x ve y türler arası ayrımı belirtmek amacı ile kullanılmıştır, Farklı harflerde gösterilen veriler arasında P<0,05 düzeyinde istatistik ayırım vardır.

$\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$  = Aritmetik ortalama ± Standart hata \*TE = Tespit edilemedi. n(t)= Toplam örnek sayısı



Şekil 1. *L. vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* örneklerinin kas dokularında, ağır metal derişim düzeyleri

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan çalışma ile Mersin ilinde bulunan ve Mersin Balık Hali'ni de kapsayan üç ayrı satış noktasından tüketime sunulan *L. vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin tüketilebilir kas dokuları içerdikleri Cr (toplam), Mn, Ni, As (toplam) ve Sn derişimleri bakımından incelenmiştir. Türk Gıda Kodeksine göre yumuşakçalar ve kabuklularda Cr, Mn, Ni, As ve Sn için kabul edilebilir limitler belirtilmemiştir. Bu nedenle yapılan bu çalışmada örneklenen sucul canlılara ait metal derişimleri Tablo 5'te metallerin tolere edilebilir üst limitleri ile karşılaştırılmış ve insan tüketimi açısından uygun olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır.

Toplam Cr derişimleri *L. vulgaris* ve *S. officinalis* türlerinin kas dokularında sırasıyla 0,05-2,23 ve 0,10-1,71 mg/kg y.a arasında değişiklik göstermiştir. Çalışma sonunda ortalama Cr derişimleri en yüksek *L. vulgaris*, en düşük ise *P. semisulcatus* türlerinde tespit edilmiştir. Guérin vd., (2011), Fransa'da tüketime sunulan kalamar, sübye ve karides türlerinin kas dokularında Cr derişimlerinin sırasıyla 0,06, 0,10 ve 0,15 mg/kg y.a olduğunu rapor etmişlerdir. Kalogeropoulos vd., (2012) ise, Yunanistan'da tüketime sunulan kalamar ve karides türlerinde Cr derişimlerinin sırasıyla 0,22 ve 0,06 mg/kg y.a olduğunu belirtmişlerdir. Araştırma sonucu elde edilen veriler incelendiğinde Cr derişimlerinin *L. vulgaris* ve *S. officinalis* türlerinin kas dokularında diğer çalışmalara göre daha yüksek seviyelerde olduğu görülmektedir. Cr, doğada birkaç formda bulunabilmektedir. Fakat bunlardan en yaygını  $Cr^{+3}$  ve  $Cr^{+6}$ 'dır (Eisler, 2000).  $Cr^{+3}$  esansiyel bir element olup vücudun şeker, yağ ve proteinlerini kullanmasında rol alırken,  $Cr^{+6}$  karsinojeniktir.  $Cr^{+3}$  ve  $Cr^{+6}$  için EPA tarafından kabul edilen referans derişimin (RfD) sırasıyla 1500 ve 3  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$  olduğu ve bu derişimlerin üzerinde Cr alımının canlılarda birçok olumsuz sağlık sorununa neden olduğu bilinmektedir (EPA, 2000a; Ikem ve Egiebor, 2005).

Mn derişimleri *L. vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin kas dokularında sırasıyla 0,07-1,08, 0,10-1,09 ve 0,12-1,13 mg/kg y.a arasında değişiklik göstermiştir.

Çalışma sonunda ortalama Mn derişimleri en yüksek *L.vulgaris*, en düşük ise *P. semisulcatus* türlerinde tespit edilmiştir. Guérin vd., (2011), Fransa'da tüketime sunulan kalamar, sübye ve karides türlerinin kas dokularında Mn derişimlerinin sırasıyla 0.31, 0.13 ve 0.42 mg/kg y.a olduğunu rapor etmişlerdir. Burger ve Gochfeld, (2005), New Jersey'de tüketime sunulan sucul canlıların kas dokularında Mn derişimlerinin 0,11-0,70 mg/kg y.a arasında değişiklik gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırma sonucu elde edilen veriler incelendiğinde Mn derişimlerinin *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin kas dokularında diğer çalışmalara göre benzer seviyelerde olduğu görülmektedir. Çocukların büyüme ve gelişmelerini sağlıklı şekilde devam ettirebilmeleri için günlük düşük miktarlarda Mn'e ihtiyaç duydukları, yüksek derişimlerde Mn alımının ise nörolojik hasarlara neden olabileceği bilinmektedir (Ikem ve Egiebor, 2005). Mn'nin karsinojenik etkileri hakkında herhangi bir veri bulunmamakla birlikte, EPA tarafından kabul edilen RfD'in 140 µg/kg/gün vücut ağırlığı olduğu rapor edilmiştir (EPA, 2010).

Ni derişimleri *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin kas dokularında sırasıyla, 0,04-0,29, 0,01-0,81 ve 0,05-0,63 mg/kg y.a arasında değişiklik göstermiştir. Çalışma sonunda ortalama Ni derişimleri en yüksek *S. officinalis* en düşük ise *L.vulgaris* türlerinde tespit edilmiştir. Guérin vd., (2011), Fransa'da tüketime sunulan kalamar, sübye ve karides türlerinin kas dokularında Ni derişimlerinin sırasıyla 0,07, 0,04 ve 0,12 mg/kg y.a olduğunu rapor etmişlerdir. Kalogeropoulos vd., (2012), Yunanistan'da tüketime sunulan kalamar türlerinde Ni derişimlerinin tespit edilebilir limitlerin altında bulunduğunu, karides türlerinde ise 0,51 mg/kg y.a olduğunu belirtmişlerdir. Araştırma sonucu elde edilen veriler incelendiğinde Ni derişimlerinin *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus*, türlerinin kas dokularında diğer çalışmalara göre daha benzer seviyelerde olduğu görülmektedir. Ni için EPA tarafından kabul edilen RfD'in 20 µg/kg/gün olduğu ve bu derişimlerin üzerinde Ni alımının karsinojenik etki ve dolaşım sistemi hasarlarına neden olabileceği bildirilmiştir (EPA, 2000b, Ikem ve Egiebor, 2005).

As derişimleri *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin kas dokularında sırasıyla, 3,47-7,10, 10,87-45,09 ve 3,03-13,30 mg/kg y.a arasında değişiklik göstermiştir. Çalışma sonunda ortalama As derişimleri en yüksek *S. officinalis*, en düşük ise *L.vulgaris* türlerinde tespit edilmiştir. Wu vd., (2014), Çin'de tüketime sunulan sucul canlıların kas dokularında As derişimlerinin 0,03-3,4 mg/kg y.a arasında değişiklik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Morgano vd., (2011), Brezilya'da tüketime sunulan sucul canlıların kas dokularında As derişimlerinin 0,11-10,82 mg/kg y.a arasında değişiklik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Araştırma sonucu elde edilen veriler incelendiğinde As derişimlerinin özellikle *S. officinalis* türlerinin kas dokularında diğer çalışmalara göre oldukça yüksek seviyelerde olduğu görülmektedir. İnorganik As için EPA tarafından kabul edilen RfD'in 0.30 µg/kg/gün olduğu ve bu derişimlerin üzerinde inorganik As alımının dermatit, impuls iletiminde yavaşlama ve akciğer kanserine neden olabileceği bildirilmiştir (Ikem ve Egiebor, 2005; EPA, 2012,).

Sn derişimleri *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin kas dokularında sırasıyla, 0,02-0,31, 0,05-0,92 ve 0,11-1,32 mg/kg y.a arasında değişiklik göstermiştir. Çalışma sonunda ortalama Sn derişimleri en yüksek *P. semisulcatus*, en düşük ise *L.vulgaris* türlerinde tespit edilmiştir. Mol, (2011), Türkiye'de tüketime sunulan konserve su ürünlerinde, Sn derişimlerinin 0-0,38 mg/kg y.a arasında değiştiğini belirtmiştir. Olmedo vd., (2013), İspanyada tüketime sunulan konserve su ürünlerinde, Sn derişimlerinin 0,01-0,75 mg/kg y.a arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Araştırma sonucu elde edilen veriler incelendiğinde Sn derişimlerinin *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve



*P.semisulcatus* türlerinin kas dokularında diğer çalışmalara göre benzer yada daha yüksek seviyelerde olduğu görülmektedir. Sn için EPA tarafından belirlenmiş RfD bulunmamaktadır. Fakat Sn'in tolere edilebilir haftalık üst limitinin 14 mg/kg olduğu bu limitlerin üzerinde Sn alımının insanlarda gastrointestinal irritasyon, kusma, ishal, bulantı, anemi, karaciğer ve böbrek yetmezliği gibi sorunlara neden olabileceği belirtilmiştir (Ikem ve Egiebor, 2005).

**Tablo 5.** Çalışma kapsamında örneklenen *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin günlük ve haftalık tüketimi ile vücuda alınabilecek metal derişimleri.

Metal	THMA <sup>a</sup>	THMA <sup>b</sup>	TGMA <sup>c</sup>	<i>L.vulgaris</i> HMA <sup>d</sup> (GMA <sup>e</sup> )	<i>S. officinalis</i> HMA <sup>d</sup> (GMA <sup>e</sup> )	<i>P.semisulcatus</i> HMA <sup>d</sup> (GMA <sup>e</sup> )
Cr <sup>+3</sup>	10500 <sup>x</sup>	735000	105000	163,8 (23,4) <sup>w</sup>	93,8 (13,4) <sup>z</sup>	*TE
Cr <sup>+6</sup>	21 <sup>x</sup>	1470	210	163,8 (23,4) <sup>w</sup>	93,8 (13,4) <sup>z</sup>	*TE
Mn	980 <sup>x</sup>	68600	9800	61,6 (8,8)	61,6 (8,8)	58,8 (8,4)
Ni	140 <sup>x</sup>	9800	1400	19,6 (2,8)	26,6 (3,8)	25,2 (3,6)
As <sup>y</sup>	2,1 <sup>x</sup>	147	21	26,6 (3,8) <sup>z</sup>	139,01 (19,85) <sup>z</sup>	31,36 (4,48) <sup>z</sup>
Sn	14000	980000	140000	19,6 (2,8)	23,8 (3,4)	64,4 (9,2)

<sup>a</sup> Tolere edilebilir haftalık metal alımı (THMA) ( $\mu\text{g}/\text{hafta}/\text{kg}$  vücut ağırlığı).

<sup>b</sup> 70 kg'lık bir insan için THMA ( $\mu\text{g}/\text{hafta}/70$  kg vücut ağırlığı).

<sup>c</sup> 70 kg'lık bir insan için kabul edilen tolere edilebilir günlük metal alımı (TGMA).

<sup>d</sup> HMA, hesaplanan haftalık ortalama metal alımı ( $\mu\text{g}/\text{hafta}/70$  kg vücut ağırlığı).

<sup>e</sup> GMA, hesaplanan günlük ortalama metal alımı ( $\mu\text{g}/\text{day}/70$  kg vücut ağırlığı).

<sup>x</sup> EPA tarafından belirlenen RfD'in haftalık olarak hesaplanması ile elde edilmiştir.

<sup>y</sup> THMA değeri inorganik arsenik için verilmiştir.

<sup>w</sup> Örneklerdeki krom derişimlerinin tamamının Cr<sup>+3</sup> yada Cr<sup>+6</sup> olduğu varsayılarak hesaplanmıştır.

<sup>z</sup> Arsenik derişimleri total arsenik olarak tespit edilmiş ve 3.5 dönüştürme katsayısı kullanılarak inorganik arsenik derişimlerine dönüşümü yapılmıştır (EFSA, 2009).

Mersin İlinde erişkin insanlar tarafından ekonomik önemi olan *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin günlük ve haftalık tüketimi ile vücuda alınabilecek metal derişimleri Tablo 5'te gösterilmiştir. Türkiye'de insanların günlük ortalama balık tüketiminin 15 gr olduğu bilinmektedir (TÜİK, 2014). Buda haftalık tüketim olarak 105 gr'a denk gelmektedir. Tablo 5'da belirtilen GMA ve HMA değerleri ortalama 70 kg olan bir kişinin günlük 15 gr ya da haftalık 105 gr sucul canlı tükettiği varsayılarak hesaplanmıştır.

Sonuçlar incelendiğinde Mersin ilinde tüketime sunulan *L.vulgaris*, *S. officinalis* ve *P. semisulcatus* türlerinin tüketilebilir kas dokularında Cr, Mn, Ni ve Sn içeriklerinin tolere edilebilir günlük ve haftalık limitlerin oldukça altında olduğu ve insan tüketimi açısından sorun teşkil etmeyeceği kanısına varılmıştır. Fakat, *S. officinalis* türünde inorganik arsenik içeriğinin RfD'ne oldukça yakın olduğu ve yüksek miktarlarda ve rutin tüketilmesi durumunda insan sağlığı açısından sorunlar teşkil edebileceği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, yapılan bu araştırma ile Mersin ilinde tüketime sunulan sucul canlıların metal içerikleri bakımından insan tüketimine uygun olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır. Benzer çalışmaların zaman zaman başka noktalar ve sucul türleri de kapsayacak şekilde periyodik olarak devam ettirilmesi, hem kirleticilerin çevreye verdikleri zararın tespit edilmesi hem de gıda güvenliği açısından son derece önem taşımaktadır.

**KAYNAKLAR**

- ATSDR, (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) 2001. Toxicological Profile for Manganese.
- Bettini, S., Ciani, F., Franceschini, V. 2006. Recovery of the Olfactory Receptor Neurons in the African Tilapia *Mariae* Following Exposure to Low Copper Level. *Aquatic Toxicology*, 76(3), 321-328.
- Burger, J., Gochfeld, M. 2005. Heavy Metals in Commercial Fish in New Jersey. *Environmental Research*, 99(3), 403-412.
- Cirillo, T., Fasano, E., Viscardi, V., Arnese, A., Amodio-Cocchieri, R. 2010. Survey of Lead, Cadmium, Mercury and Arsenic in Seafood Purchased in Campania, Italy. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 3(1), 30-38.
- Dyer, C. A. 2007. Heavy Metals as Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocrine-Disrupting Chemicals* (pp. 111-133). Humana Press.
- Ebrahimi, M., Taherianfard, M. 2011. The Effects of Heavy Metals Exposure on Reproductive Systems of Cyprinid Fish From Kor River. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 10(1), 13-26.
- EFSA, E. 2009. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on Arsenic in Food. *EFSA J*, 7(10), 1351.
- Eisler, R. 2000. *Handbook of Chemical Risk Assessment: Health Hazards to Humans, Plants, and Animals, Three Volume Set (Vol. 1)*. CRC Press.
- El-Moselhy, K. M., Othman, A. I., El-Azem, H. A., El-Metwally, M. E. A. 2014. Bioaccumulation of Heavy Metals in Some Tissues of Fish in the Red Sea, Egypt. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(2), 97-105.
- EPA(a), 2000. U.S. Environmental Protection Agency. Chrome Compounds. <http://www3.epa.gov/airtoxics/hlthef/chromium.html>
- EPA(b), 2000. U.S. Environmental Protection Agency. Nickel Compounds. <http://www3.epa.gov/airtoxics/hlthef/nickel.html>
- EPA, 2010. U.S. Environmental Protection Agency. Manganese Compounds. <http://www.epa.gov/ttn/atw/hlthef/manganes.html>.
- EPA, 2012. U.S. Environmental Protection Agency. Arsenic Compounds. <http://www3.epa.gov/airtoxics/hlthef/arsenic.html>.
- FAO, 2005. Statistics division, food security statistics, food consumption. [http://www.fao.org/es/ESS/faostat/foodsecurity/index\\_en.htm](http://www.fao.org/es/ESS/faostat/foodsecurity/index_en.htm).2005.
- FAO, 2014. *The State of World Fisheries and Aquaculture*, Roma, <http://www.fao.org/3/a-i3720e.pdf>.
- Guérin, T., Chekri, R., Vastel, C., Sirot, V., Volatier, J. L., Leblanc, J. C., Noël, L. 2011. Determination of 20 Trace Elements in Fish and Other Seafood from the French Market. *Food Chemistry*, 127(3), 934-942.
- Ikem, A., Egiebor, N. O. 2005. Assessment of Trace Elements in Canned Fishes (Mackerel, Tuna, Salmon, Sardines and Herrings) Marketed in Georgia and Alabama (United States of America). *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(8), 771-787.
- Järup, L. 2003. Hazards of Heavy Metal Contamination. *British Medical Bulletin*, 68(1), 167-182.
- Jimoh, A. A., Clarke, E., Ndimele, P. E., Kumolo-Johnson, C. A., FA, A. 2011. Concentrations of Heavy Metals in *Macrobrachium vollenhovenii* (Herklots, 1857) from Epe Lagoon, Lagos, Nigeria. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences*, 3(3), 197-202.
- Kalogeropoulos, N., Karavoltos, S., Sakellari, A., Avramidou, S., Dassenakis, M., Scoullou, M. 2012. Heavy Metals in Raw, Fried and Grilled Mediterranean Finfish and Shellfish. *Food and Chemical Toxicology*, 50(10), 3702-3708.
- Khansari, F. E., Ghazi-Khansari, M., Abdollahi, M. 2005. Heavy Metals Content of Canned Tuna Fish. *Food Chemistry*, 93(2), 293-296.

- Lau S., Tan A.C.Y., Sabtuyah S. 1996. Bioaccumulation of heavy metals in mollusca from Sg. Sarawak, Proceeding Malaysian Chem. Congress 96. Genting Highland.
- Lau, S., Mohamed, M., Yen, A. T. C., Su'Ut, S. 1998. Accumulation of Heavy Metals in Freshwater Molluscs. *Science of the Total Environment*, 214(1), 113-121.
- Levesque, H. M., Moon, T. W., Campbell, P. G. C., Hontela, A. 2002. Seasonal Variation in Carbohydrate and Lipid Metabolism of Yellow Perch (*Perca flavescens*) Chronically Exposed to Metals in the Field. *Aquatic Toxicology*, 60(3), 257-267.
- Miedico, O., Iammarino, M., Pompa, C., Tarallo, M., Chiaravalle, A. E. 2015. Assessment of Lead, Cadmium and Mercury in Seafood Marketed in Puglia and Basilicata (Italy) by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Food Additives & Contaminants: Part B*, (Ahead-of-Print):1-8.
- Mol, S. 2011. Levels of Heavy Metals in Canned Bonito, Sardines, and Mackerel Produced in Turkey. *Biological Trace Element Research*, 143(2),974-982.
- Morgano, M. A., Rabonato, L. C., Milani, R. F., Miyagusku, L., Balian, S. C. 2011. Assessment of Trace Elements in Fishes of Japanese Foods Marketed in São Paulo (Brazil). *Food Control*, 22(5), 778-785.
- Muramoto, S. 1983. Elimination of Copper from Cu-Contaminated Fish by Long-term Exposure to EDTA and Fresh Water. *Journal of Environmental Science & Health Part A*, 18(3), 455-461.
- Odžak, N., Zvonarić, T., Gašpić, Z. K., Horvat, M., Barić, A. 2000. Biomonitoring of Mercury in the Kaštela Bay Using Transplanted Mussels. *Science of the Total Environment*, 261(1), 61-68.
- Olmedo, P., Pla, A., Hernández, A. F., Barbier, F., Ayouni, L., Gil, F. 2013. Determination of Toxic Elements (Mercury, Cadmium, Lead, Tin and Arsenic) in Fish and Shellfish Samples. Risk Assessment for the Consumers. *Environment International*, 59,63-72.
- Pandit, A. R., Magar, N. G. 1972. Chemical Composition of *Sepia orientalis* and *L. vulgaris*. *Fish Tech*, 9, 122-125.
- Türkmen, M., Türkmen, A., Tepe, Y., Töre, Y., Ateş, A. 2009. Determination of Metals in Fish Species from Aegean and Mediterranean Seas. *Food Chemistry*, 113(1), 233-237.
- Wu, X., Gao, M., Wang, L., Luo, Y., Bi, R., Li, L., Xie, L. 2014. The Arsenic Content in Marketed Seafood and Associated Health Risks for the Residents of Shandong, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102, 168-173.

## Effect of Dietary Sage (*Salvia officinalis* L.), Licorice Root (*Glycyrrhize glabra* L.), Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and Echinaceae (*Echinacea angustifolia* Hell) on Nonspecific Immunity and Resistance to *Vibrio anguillarum* Infection in Rainbow Trout, (*Oncorhynchus mykiss*)

Sedef TERZİOĞLU\*, Öznur DİLER

Süleyman Demirel University, Faculty of Fisheries, Department of Aquaculture, Isparta, TURKEY

Geliş : 15.02.2016

Kabul : 20.06.2016

**Research Article / Araştırma Makalesi**

\*Corresponding Author: sedef.terzioglu@gmail.com

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Abstract

In this study, the effects of blueberry (*Vaccinium myrtillus*), licorice root (*Glycyrrhize glabra*), echinaceae (*Echinacea angustifolia*) and sage (*Salvia officinalis*) on immune response, some haematological tests and disease resistant of rainbow trout were investigated. Fish were fed diets containing 0 (control), 0.1 and 1.0% herbs (w/w) for 45 days. Results of this study showed that rainbow trout the feeding with plants (0.1 %) enhanced NBT (nitroblue tetrazolium) and lysozyme activity and total leukocyte counts at 45<sup>th</sup> day of experiment (p<0.05). These results suggested that all plants used our study can be applied as fed supplement to elevate immunity in rainbow trout. However, RPS values only in the groups, blueberry (0.1, 1 %) and echinacea (0.1 %) were found to be over 50 following *V. anguillarum* infection.

**Keywords:** *Salvia officinalis*, *Vaccinium myrtillus*, *Glycyrrhize glabra*, *Echinacea angustifolia*, Non-specific immunity, *Vibrio anguillarum*

**Adaçayı (*Salvia officinalis* L.), Meyan Kökü (*Glycyrrhize glabra* L.), Yaban Mersini (*Vaccinium myrtillus* L.) ve Ekinezyanın (*Echinacea angustifolia* Hell) Gökkuşacağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) Spesifik Olmayan Bağışıklığa ve *Vibrio anguillarum* Enfeksiyonuna Etkisi**

### Özet

Bu çalışmada, yaban mersini (*Vaccinium myrtillus*), meyan kökü (*Glycyrrhize glabra*), ekinezya (*Echinacea angustifolia*) ve adaçayının (*Salvia officinalis*) gökkuşacağı alabalığının bağışıklık sistemi, bazı hematolojik testler ve hastalıklara direnç üzerindeki etkisi incelendi. Balıklar kontrol (0), % 0.1 ve 1 (g/kg) oranında diyetle ilave edilen bitki ile 45 gün süre ile beslendi. Araştırma sonuçlarına göre denemenin 45. gününde % 0,1 oranında yemlerine bitki ilave edilen tüm gruplardaki balıklarda NBT ve lizozim kativiteleri ve toplam lökosit sayıları arttı (p<0.05). Araştırma sonuçlarına göre kullandığımız tüm bitkilerin gökkuşacağı alabalıklarında spesifik olmayan bağışıklığı artırması nedeniyle yem katkı maddesi olarak kullanılabilirliği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *V. anguillarum* ile deneysel enfeksiyon sonunda RPS değerleri sadece yaban mersini (%0,1,1) ve ekinezya (%0.1) gruplarında 50'nin üzerinde bulundu.

**Anahtar kelimeler:** *Salvia officinalis*, *Vaccinium myrtillus*, *Glycyrrhize glabra*, *Echinacea angustifolia*, Non-spesifik bağışıklık, *Vibrio anguillarum*

## INTRODUCTION

The use of immunostimulants in fish culture for the prevention of disease is a promising new development. Immunostimulants enhance the innate immune response (Sakai, 1999). The use of medicinal herbs is an alternative to antibiotics in fish health management (Hermann et al., 2003; Abdel-Tawwab et al., 2008; Ashraf and Goda, 2008).

### How to Cite

Many studies have confirmed that the application of diet herbal additives has a positive impact on the health and resistance of the fish, and also improves their condition and growth rate.

Vibriosis is one of the most prevalent fish disease caused by bacteria belonging to the genus *Vibrio*. *Vibrio anguillarum* is reported in many fish species as a pathogen such as rainbow trout (Ekici et al., 2005), sea bream (Akayli and Timur, 2002), sea bass (Tanrikul et al., 2004).

In this study, blueberry (*Vaccinium myrtillus* L., Ericaceae), licorice root (*Glycyrrhiza glabra* L., Fabaceae), Echinacea (*Echinacea angustifolia* Hell, Asteraceae) and sage (*Salvia officinalis* L., Lamiaceae) were chosen because of their recorded pharmacological activities (Baydar, 2005). Blueberry (*V. myrtillus*) is used as traditional human medicine to treat circulatory problems (Martin-Aragon et al., 1998) and as anti-inflammatory agent (Turkben et al., 2008). Echinacea (*E. angustifolia*) is primarily used in medicine believed to stimulate the immune system. It also used as antibacterial agent (Barnes et al., 2005). *S. officinalis* L. (Lamiaceae) is an important and native the Mediterranean region. It is a rich source polyphenols. Rosmarinic acid, carnasol and carnosic acid were the prevalent compounds of *S. officinalis* methanolic extract. Polyphenolic compounds known to be responsible for the main antioxidant activity of *S. officinalis* (Baydar, 2005; Bayram and Sonmez, 2006; Ekren et al., 2007; Farhat et al., 2009).

*G. glabra* L. (Fabaceae) is native grow in Turkey. Liguorice is extracted from the root of the plant *G. glabra* and use pharmaceutical industry (Fenwick et al., 1990; Akan and Balos, 2008).

In the present study, the effect of sage, licorice root, blueberry and echinaceae on nitroblue tetrazolium (NBT) activity, lysozyme activity and some hematological parameters and disease resistance against a pathogenic bacteria *Vibrio anguillarum* in rainbow trout was investigated.

## **MATERIALS and METHODS**

### **Fish and Experimental Design**

The experiments were conducted in the flow-through system in the aquaculture laboratory at the fisheries faculty in Egirdir/Isparta. Healthy rainbow trouts, weighing approximately (15±2 g), were obtained from a commercial aquaculture farm in Isparta. Fish were randomly distributed into tanks (350 L), and acclimated to laboratory conditions for two weeks. The experimental fish were divided into twelve groups of 30 each, in triplicate. Water temperature and pH were constant (12° C; pH 7.2) during the experimental period and dissolved oxygen was maintained 7.5 mg l<sup>-1</sup> and water flow rate of 1-1.5 min<sup>-1</sup> with continuous aeration. The feed ingredients of diet were presented in Table1.

**Table 1.** Formulation (%) of the experimental diet

Ingredients	Experimental Groups and Utilization Rates (mg kg <sup>-1</sup> )								
	1% Blueberry	0.1% Blueberry	1% Licorice Root	0,1% Licorice Root	1% Echinacea	0.1% Echinacea	1% Sage	0.1% Sage	Negative Control
Fish meal <sup>1</sup>	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00	35.00
Soybean <sup>2</sup>	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
Wheat gluten <sup>3</sup>	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00
Wheat by-product <sup>4</sup>	13.999	13.9999	13.999	13.9999	13.999	13.9999	13.999	13.999	14.00
Fish oil <sup>5</sup>	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00	8.00
C vitamin <sup>6</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Others <sup>7</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Pellet binders <sup>8</sup>	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00	3.00
Antioxidant <sup>9</sup>	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
Vitamin premix <sup>10</sup>	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Mineral premix <sup>11</sup>	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Herb (w/w)	0.001	0.0001	0.001	0.0001	0.001	0.0001	0.001	0.0001	0

<sup>1-7</sup>Abalioglu Feed Factory; Uzundere Location Torbalı-Izmir/Turkey.

<sup>8</sup>Aquacube

<sup>9</sup>Ethoxyquin

<sup>10</sup>Vitamin premix; per kg, 4 000 000 IU vitamin A, 480 000 IU vitamin D<sub>3</sub>, 40 000 mg vitamin E, 2400 mg vitamin K<sub>3</sub>, 4 000 mg vitamin B<sub>1</sub>, 6 000 mg vitamin B<sub>2</sub>, 40 000 mg niacin, 10 000 mg calcium D-pantothenate, 4 000 mg vitamin B<sub>6</sub>, 10 mg vitamin B<sub>12</sub>, 100 mg D-biotin, 1 200 mg folic acid, 40 000 mg vitamin C and 60 000 mg inositol.

<sup>11</sup>Mineral premix; per kg 23 750 mg Mn, 75 000 mg Zn, 5 000 mg Zn, 2 000 mg Co, 2 750 mg I, 100 mg Se, 200 000 mg Mg.

Four herbal supplement were obtained from local market. The dried, powdered plant materials were mixed with a certain proportion. The control diet contained no supplementation (0%). Herbal mixture was incorporated into diet at different rates of 0.1%, 1.0% then made into pellet feed. The experimental pellets were packed and stored at 4° C.

### Gas Chromatography-Mass Spectroscopy Analyses of Plants Materials

The gas chromatographic analysis of plant materials was performed with Hewlett-Packard G890 series gas chromatography (Perkin Elmer (PE) Auto System XL, USA), fitted with a flame ionization detector (FID). The PE Auto System XL gas chromatograph was employed under the following conditions: capillary column, CPW ax 52 CB (50M × 0.32 mm: film thickness ¼ 0.25 lm); oven temperature program. 40 °C raised to 230 °C at a rate of 4 °C/min and then held at 230 °C for 10 min; injector and detector temperatures, 250 °C; carrier gas, helium at flow rate of 1.5 ml min<sup>-1</sup>; split ratio 1/20 ml min<sup>-1</sup> Relative percentage amounts were calculated from chromatograms by the Turbo Crom. Navigator computer program (Baydar et al., 2004; Sarac et al., 2009) (Table 2).

**Table 2.** Gas chromatographic working condition

Injection Column	250° C
Detector	250° C
Flow Rate (ml/min)	1,5
Detector	70 eV
Ionization Type	El
Carrier Gas	Helium
Capillary Column	Cp WAX 52 CB 50 m * 0.32 mm, 1,2 µm
Oven Temperature	40 °C raised to 230 °C at a rate of 4 °C/min
Programme	and then held at 230 °C for 10 min;
Used Library	Wiley, Nist, Tutor

### Sample Collection, Haematological and Immunological Tests

Blood samples were collected from the caudal vein of rainbow trout for 20 and 45 days. Some of each blood sample was allocated for the haematological assays and the rest of the blood samples were added to heparin containing tubes for the other immunological analyses. Serums were separated by centrifugation at 5000 g for 5 min and immunological analyses were done.

For determining red blood cells (RBC) and white blood cells (WBC), Natt-Herrick diluting fluid was used. Counting was done by mixing the blood with the diluting fluids. Cell counting was performed using a Neubauer's counting chamber under a light microscope (Hoffman and Lommel, 1984).

Hematocrit (Hct) was determined using a capillary hematocrit tube and it was measured by hematocrit scale.

The turbidimetric assay for lysozyme was carried out according to Demers and Bayne, (1997). For this, 25 µl volumes of serum were added to 2 ml of suspension of *Micrococcus lysodeikticus* (0.2 mg ml<sup>-1</sup>, Sigma-Aldrich) in sodium phosphate buffer (pH 6.2) and followed by 15 min reaction at 37 °C and the absorbance was measured at 530 nm in a microplate reader after 0.3 and 4.5 min on a spectrophotometer. Lysozyme activity was defined as µg per ml serum (Demers and Bayne, 1997).

NBT (Sigma N-6876) was used to determine the respiratory burst activity by following a modified method. Nitroblue tetrazolium (NBT) (Sigma No: N-6876) solution (0.2%) was freshly prepared in sterile 0.85% (w/v) saline and used in a modification of the method described by Anderson et al, (1992). Briefly, 50 µl of blood was dropped on to coverslip and incubated in 0.067 mM sodium phosphate buffer (pH 6.4) to remove the red blood cells. A drop of 0.2% NBT solution was placed on to a microscope slide and the coverslip was placed cell face down on the NBT solution. The cells were incubated for 30 min at 25°C. The positive, dark blue staining cells were counted under a microscope (×400 magnifications). Five coverslips were examined for each fish and five random fields were counted on each slide. The twenty five field were averaged and mean and standard error of values per field for fish were calculated (Anderson et al., 1992).

### Challenge Test

*V. anguillarum* was obtained from Egirdir Fisheries Faculty. After 45 days of feeding, all fish from each group were injected intraperitoneally (i.p.) with 100 µl PBS containing 2.10<sup>2</sup> cfu ml<sup>-1</sup> *V. anguillarum* strain cells (Ceylan and Altun, 2010; Ekici, 2010). *V.*

*anguillarum* was re-isolated to confirm the mortality during the experimental infection. Mortality was recorded for 10 days. Relative Percent Survival (RPS) was calculated according to Ellis (1998) as follows:  $RPS = (1 - (\% \text{mortality treatment} / \% \text{mortality control})) \times 100$

### Statistical Analysis

The obtained data analyzed with one way analysis of variance (ANOVA) to determine if significant differences occurred among the herbal treatments and control group. Duncan's multiple-range test was used to compare differences among individual means. The data were analyzed with SPSS 11.05. All statistical computations were performed at the probability level of  $P < 0.05$ .

### RESULTS

The results of the chemical analysis of *S. officinalis*, *G. glabra*, *E. angustifolia* and *V. myrtillus* were presented in Table 3. The major components of the *V. myrtillus*, *G. glabra*, *S. officinalis* and *E. angustifolia* were hexanal (32.84%) 1.8 cineol (31.62%), hexanal (36.66%), 1.8 cineole (56.98%) and 1.8 cineole (27.10%) respectively.

**Table 3.** Chemical composition of the plant materials

Bluberry ( <i>V. myrtillus</i> )		Licorice ( <i>G. glabra</i> )		Sage ( <i>S. officinalis</i> )		Echinacea ( <i>E. angustifolia</i> )	
Plant components	(%)	Plant components	(%)	Plant components	(%)	Plant components	(%)
Hexanal	32.84	Hexanal	36.66	Hexanal	0.43	Hexanal	10.64
1,8-cineole	31.62	1,8-cineole	19.84	1,8-cineole	56.98	1,8-cineole	27.10
1-hexanol	2.82	1-hexanol	6.39	2-hexanal	0.41	1-hexanol	3.26
7-octen-4-ol	2.82	7-octen-4-ol	1.07	7-octen-4-ol	0.39	7-octen-4-ol	1.70
Camphor	8.73	Camphor	11.08	Camphor	21.15	Camphor	15.27
Alpha-terpineol	1.84	Alpha-terpineol	1.77	Alpha-terpineol	1.31	Alpha-terpineol	2.53
1-pentanol	2.05	1-pentanol	2.92	$\alpha$ -cymene	0.91	$\alpha$ -cymene	4.95
Alpha pinene	8.39	Carvone	3.23	Alpha pinene	1.93	Camphene	3.24
$\alpha$ -cymene	2.41	Carvacrol	5.83	Camphene	1.74	Beta-pinene	1.94
2-heptanal	1.85	Borneol	1.14	Beta-pinene	0.39	Z-thujenol	3.39
Limonene	4.63	Trans-caryophyllene	0.30	Beta-myrcene	1.14	Beta-myrcene	1.44
		Bornyl acetate	1.31	Limonene	0.46	2-hexenal	4.57
		p-cymene	1.86	3-hexen-1-ol	0.20	Nerolidol	2.09
		2-pentyl-furan	6.60	Alpha-thujone	1.10	Limonene oxide	2.16
				Beta-thujone	0.69	Isoborneol	1.57
				Bornyl acetat	3.43	Berbenone	4.29
				4-terpineol	0.29	Alpha pinene	9.87
				Trans-caryophyllene	3.48		
				Aromadendrene	0.26		
				Linalyl oxide	0.42		
				Alpha-humulene	0.48		
				Terpinyl acetate	0.27		
				Borneol	2.13		

Immunostimulatory effects of plants were given Table 4. NBT and lysozyme activities and total leukocyte counts in the groups treated with plants (0.1 %) were significantly different compared to the control group ( $P < 0.05$ ) in 45<sup>th</sup> day of experiment.



**Table 4.** The effects of dietary herbal additives on the hematologic and immune parameters of rainbow trout

Blood Parameters	Days	1% Sage	0.1% Sage	1% Echinacea	0.1% Echinacea	1% Licorice Root	0.1% Licorice Root	1% Blueberry	0.1% Blueberry	Control
<b>Hematocrit Values (%)</b>	20	39.22±3.65 <sup>a</sup>	43.56±0.53 <sup>ab</sup>	45.89±1.65 <sup>b</sup>	42.22±0.95 <sup>ab</sup>	41.78±1.59 <sup>ab</sup>	44.33±1.65 <sup>ab</sup>	40.33±0.88 <sup>a</sup>	43.11±0.93 <sup>ab</sup>	46.89±1.49 <sup>b</sup>
	45	39.22±0.70 <sup>a</sup>	46.89±0.59 <sup>bcd</sup>	44.89±0.48 <sup>b</sup>	46.89±1.35 <sup>bcd</sup>	44.22±1.34 <sup>b</sup>	50.33±1.69 <sup>d</sup>	45.22±0.81 <sup>bc</sup>	49.11±2.03 <sup>cd</sup>	47.56±1.58 <sup>bcd</sup>
<b>Erythrocyte Level (<math>\times 10^6 \mu\text{l}^{-1}</math>)</b>	20	0.24±0.005 <sup>c</sup>	0.18±0.004 <sup>a</sup>	0.18±0.011 <sup>ab</sup>	0.22±0.005 <sup>bc</sup>	0.19±0.011 <sup>ab</sup>	0.18±0.018 <sup>ab</sup>	0.20±0.006 <sup>abc</sup>	0.19±0.033 <sup>ab</sup>	0.16±0.005 <sup>a</sup>
	45	0.18±0.012 <sup>ab</sup>	0.18±0.007 <sup>ab</sup>	0.22±0.007 <sup>c</sup>	0.28±0.013 <sup>e</sup>	0.16±0.010 <sup>a</sup>	0.20±0.008 <sup>bc</sup>	0.19±0.011 <sup>b</sup>	0.22±0.009 <sup>c</sup>	0.18±0.008 <sup>ab</sup>
<b>Total leukocyte Counts (<math>\times 10^5 \mu\text{l}^{-1}</math>)</b>	20	0.22±0.029 <sup>bc</sup>	0.13±0.005 <sup>a</sup>	0.17±0.012 <sup>abc</sup>	0.18±0.024 <sup>abc</sup>	0.19±0.012 <sup>abc</sup>	0.17±0.019 <sup>abc</sup>	0.19±0.012 <sup>abc</sup>	0.23±0.043 <sup>c</sup>	0.15±0.016 <sup>ab</sup>
	45	0.24±0.013 <sup>d</sup>	0.23±0.013 <sup>cd</sup>	0.24±0.008 <sup>d</sup>	0.28±0.024 <sup>e</sup>	0.13±0.007 <sup>a</sup>	0.17±0.008 <sup>b</sup>	0.17±0.009 <sup>b</sup>	0.19±0.017 <sup>bc</sup>	0.10±0.005 <sup>a</sup>
<b>Nitro Blue Tetrazolium (NBT)</b>	20	0.31±0.10 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>a</sup>	1.61±0.74 <sup>bc</sup>	0.46±0.18 <sup>a</sup>	0.82±0.36 <sup>ab</sup>	0.60±0.23 <sup>ab</sup>	1.88±0.47 <sup>c</sup>	1.03±0.21 <sup>abc</sup>	0.22±0.11 <sup>a</sup>
	45	6.38±1.69 <sup>d</sup>	4.71±0.72 <sup>bcd</sup>	3.73±0.22 <sup>bc</sup>	5.09±0.44 <sup>bcd</sup>	4.96±0.59 <sup>bcd</sup>	3.58±0.76 <sup>bc</sup>	0.51±0.20 <sup>a</sup>	4.27±0.81 <sup>bcd</sup>	2.44±0.74 <sup>a</sup>
<b>Lysozyme Activity (Unit ml<sup>-1</sup>)</b>	20	666.60±2.84 <sup>b</sup>	1555.60±0.92 <sup>e</sup>	600.00±0.76 <sup>ab</sup>	1244.40±2.41 <sup>c</sup>	1333.30±2.09 <sup>d</sup>	533.30±2.84 <sup>a</sup>	1746.78±1.56 <sup>e</sup>	2133.30±2.58 <sup>f</sup>	675.00±0.70 <sup>b</sup>
	45	496.66±2.07 <sup>a</sup>	2010.53±3.61 <sup>c</sup>	823.67±2.03 <sup>b</sup>	1910.00±4.19 <sup>bc</sup>	1741.18±3.79 <sup>bc</sup>	1501.33±3.58 <sup>bc</sup>	1885.71±5.47 <sup>bc</sup>	2383.33±4.25 <sup>c</sup>	742.22±2.34 <sup>a</sup>

Values are provided as mean ± standard error. Values different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) within the lines.

It was observed that groups of rainbow trout fed with blueberry (0.1, 1 %) and Echinacea (0.1 %) had good RPS values following challenge infection with *V. anguillarum* (Table 5).

**Table 5.** The rate of mortality and RPS values offollowing challenge infection with *V. anguillarum*

Groups	Mortality (%)	RPS
1% Blueberry	30±2.00 <sup>a</sup>	53.13
0.1% Blueberry	30±2.00 <sup>a</sup>	53.13
0.1% Echinacea	32±2.00 <sup>ab</sup>	50.00
0.1% Licorice Root	34±2.00 <sup>ab</sup>	46.88
0.1% Sage	34±2.00 <sup>ab</sup>	46.88
1% Licorice Root	38±2.00 <sup>bc</sup>	40.63
1% Echinacea	44±2.00 <sup>cd</sup>	31.25
1% Sage	48±2.00 <sup>d</sup>	25.00
Control	64±1.00 <sup>e</sup>	

Values are provided as mean ± standard error. Values different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ) within the column.

## DISCUSSION

The immunomodulatory effects of herbal medicines have been well reported in various fish species (Dugenci et al., 2003; Yin et al., 2006; Sahu et al., 2007; Aly et al., 2008; Ahilan et al., 2010; Awad and Austin, 2010; Tang et al., 2014). The immunostimulatory response and pathogen resistance of *V. myrtillus*, *G. glabra*, *E. angustifolia* and *S. officinalis* were investigated on rainbow trout in this study. Results of this study showed that the feeding rainbow trout with 0.1 and 1.0% licorice root and 0.1% blueberry enhanced NBT activity and 1.0% blueberry and licorice root enhanced lysozyme activity for 20 and 45 days. NBT activity was found higher in 0.1% fed with plants than the control group for 45 days. Lysozyme is a important antimicrobial effector in fish (Yeh et al., 2008), which also serve as on opsonin in complement system and phagocytes activation (Magnadottir, 2006). The present study indicated that 0.1% doses of plants enhanced lysozyme activity compared to the control for 45 day. Mesalhy et al., (2008) observed echinaceae (*E. purpurea*) as immunostimulatory agent in nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). In addition, increased NBT value was also reported on koi carp (*Cyprinus carpio*) fed with tetra (*Cotinus coggygia*) (Bilen et al. 2013). Increased lysozyme activity reported by Nya and Austin, (2009) on rainbow trout fed with garlic (*Allium sativum*) bulb and Yin et al. (2006) on tilapia fed with Chinese herb (*Astragalus radix*).

It has been widely established that certain herbs can improve the resistance of fish to bacterial diseases. The antibacterial active principles of the herbals may lyse the cell wall, block the protein synthesis and DNA synthesis, inhibit the enzyme secretions and interfere with the signaling mechanism of quorum sensing pathway (Citarasu, 2010). Zilberg et al., (2010) found that feeding with dried rosemary leaves (*Rosmarinus officinalis*) significantly reduced mortality following infection with *Streptococcus iniae*. Mesalhy et al., (2008) observed echinaceae (*E. purpurea*) as immunostimulatory agent in nile tilapia (*O. niloticus*) and *E. purpurea* extract increased survival rate against the pathogen *Pseudomonas fluorescens*. The *V. anguillarum* is commonly considered halophilic pathogen (Taylor, 1989), but Fujiwara-Nagata and Eguchi, (2004) have shown that this pathogen can survive in freshwater conditions and it is also pathogenic for rainbow trout (Ekici et al. 2005). Alexander et al. (2010) reported that *Tinospora cordifolia* leaves gave protection in terms of reduced percent mortality which is reflected in the increased RPS values. In contrast, Huttenhuis et al. (2006) observed that a challenge with *V. anguillarum* resulted in an initially higher cumulative mortality in the group fed with lipopolysaccharide (LPS). In the present study, the groups fed with blueberry (0.1, 1 %) and echinacea (0.1 %) had good RPS values following challenge infection with *V. anguillarum*. As a result of this study, oral administration of plants at dose of 0.1% increased the non

specific immunity of rainbow trout. However, only the plants, blueberry (0.1, 1%) and echinacea (0.1%) protected the fish against *V. anguillarum*.

### Acknowledgments

This research was supported by Suleyman Demirel University (BAP) (Project no SDUBAP 2826-YL-11). We thank you for their help research assistant Öznur Görmez.

### REFERENCES

- Abdel-Tawwab, M., Azza, M., Abdel-Rahman, N.E.M.I. 2008. Evaluation of Commercial Live Bakers' Yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a Growth and Immunity Promoter for Fry Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280,185-189.
- Ahilan, N.B., Nithiyapriyatharshini, A., Ravaneshwaran, K. 2010. Influence of Certain Herbal Additives on the Growth, Survival and Disease Resistance of Goldfish, *Carassius auratus* (InnAeus). *Tamilnadu Journal Veterinary and Animal Sciences*, 6,5-11.
- Akan, H., Balos, M.M. 2008. The Medicinal Important, Ethnobotanical Peculiarities and Export Situations of Licorice Plant (*Glycyrrhiza glabra* L.) of GAP Region. *Science and Engineering Journal of Firat University*, 20,233-241.
- Akayli, T., Timur, G. 2002. Vibriosis in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Farms in the Aegean Sea Coast of Turkey. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2,89-91.
- Alexander, C.P., Kirubakaran, C.J.W., Michael, R.D. 2010. Water Soluble Fraction of *Tinospora cordifolia* Leaves Enhanced the Non-specific Immune Mechanisms and Disease Resistance in *Oreochromis mossambicus*. *Fish Shellfish Immun*, 29,765-772. doi: 10.1016/j.fsi.2010.07.003.
- Aly, S.M., Mohammed, M. F., John, G. 2008. Echinacea as Immunostimulatory Agent in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) via Earthen Pond Experiment. 8th International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1033-1042.
- Anderson, D.P., Moritomo, T., Grooth, R. 1992. Neutrophil, Glass-Adherent Nitroblue Tetrazolium Assay Gives Early Indication of Immunization Effectiveness in Rainbow Trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 30,419-429.
- Ashraf, M.A., Goda, S. 2008. Effect of Dietary Ginseng Herb (Ginsana G115) Supplementation on Growth, Feed Utilization and Hematological Indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39,205-214.
- Awad, E., Austin, B. 2010. Use of Lupin, *Lupinus perennis*, Mango, *Mangifera indica*, and Stinging Nettle, *Urtica dioica*, as Feed Additives to Prevent *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 33,414-420.
- Barnes, J., Anderson, L.A., Gibbons, S., Phillipson, J.D. 2005. Echinacea Species (*Echinacea angustifolia* (DC.) Hell., *Echinacea pallida* (Nutt.) Nutt., *Echinacea purpurea* (L.) Moench): A Review of Their Chemistry, Pharmacology and Clinical Properties. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57,929-954.
- Baydar, H., Sagdic, O., Ozkan, G., Karadogan, T. 2004. Antibacterial Activity and Composition of Essential Oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* Species with Commercial Importance in Turkey. *Elsevier Food Control*, 15,169-72.
- Baydar, H., 2005. Tıbbi Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilim ve Teknolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi, SDÜ Basımevi, No:51, Isparta, S.125. ISBN: 9757929794, 9789757929796.
- Bayram, E., Sonmez, Ç. 2006. Adaçayı Yetiştiriciliği. E. Ü. Tar. Uyg. ve Araş. Merkezi Yayın Bülteni No: 48. ISSN 1300-3518. Bornova/İzmir.
- Bilen, S., Yılmaz, S., Bilen, A.M. 2013. Influence of Tetra (*Cotinus coggygria*) Extract Against *Vibrio anguillarum* Infection in Koi Carp, *Cyprinus carpio* with Reference to Haematological and Immunological Changes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13,517-522.
- Ceylan M., Altun S. 2010. Haematological Parameters of Rainbow Trouts (*Oncorhynchus mykiss*) Experimentally Infected with *Vibrio anguillarum*. *Uludag University Journal Faculty Veterinary Medicine*, 2,35-42.
- Citarasu, T. 2010. Herbal Biomedicines: a New Opportunity for Aquaculture Industry. *Aquacult. Int.*, 18,403-414.
- Demers, N.E., Bayne, C.J. 1997. The Immediate Effects of Stress on Hormones and Plasma Lysozyme in Rainbow Trout. *Developmental and Comparative Immunology*, 21,363-373.
- Dugenci, S., Arda, N., Candan, A. 2003. Some Medicinal Plants as Immunostimulant for Fish. *Journal of Ethnopharmacology*, 88,99-106.
- Ekici, S., Diler, O., Altun, S. 2005. *Vibrio* Enfection in Cultured Fish. XIII. National Symposium on Fisheries, 01-04 September, Çanakkale.

- Ekici, S. 2010. The Effect of Vaccination against Vibriosis in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Immune System. Süleyman Demirel University, Graduate School of Applied and Natural Sciences, Department of Aquaculture 127 pp.
- Ekren, S., Sonmez, C., Sancaktaroglu, S., Bayram, E. 2007. Farklı Biçim Yüksekliklerinin Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) Genotiplerinde Agronomik ve Teknolojik Özelliklere Etkisinin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 44,55-70.
- Ellis, A. E. 1988. General Principles of Fish Vaccination. In: Fish Vaccination (ELLIS, A.E., ed.). Academic Press Ltd., 1-19.
- Farhat, M.B., Jordán, M.J., Chaouech-Hamada, R., Landoulsi, A., Sotomayor, J.A. 2009. Variations in Essential Oil, Phenolic Compounds, and Antioxidant Activity of Tunisian Cultivated *Salvia officinalis* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57,10349-10356.
- Fenwick, G.R., Lutomski, J., Nieman, C. 1990. Liguorice, *Glycyrrhiza glabra* L. Composition, Uses and Analysis. Food Chemistry, 38,119-143.
- Fujiwara-Nagata, E., Eguchi, M. 2004. Significance of Na<sup>+</sup> in the Fish Pathogen, *Vibrio anguillarum*, Under Energy Depleted Condition. FEMS Microbiol Lett, 234,163-167. doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09528.x.
- Hermann, J. R., Honeyman, M. S., Zimmerman, J. J., Thacker, B. J., Holden, P. J., Chang, C. 2003. Effect of Dietary *Echinacea purpurea* on Viremia and Performance in Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus-Infected Nursery Pigs. Journal of Animal Science, 81,2139-2144.
- Hoffmann, R., Lomel, R. 1984. Effect of Repeated Blood Sampling on Some Blood Parameters in Freshwater Fish. Journal of Fish Biology, 24,245-251.
- Huttenhuis, H.B.T., Ribeiro, A.S.P., Bowden, T.J., Van Bavel, C., Taverne-Thiele, A.J., Rombout, J.H.W.M. 2006. The Effect of Oral Immunostimulation in Juvenile Carp (*Cyprinus carpio* L.). Fish Shellfish Immun, 21,261-271. doi: 10.1016/j.fsi.2005.12.002.
- Magnadottir, B. 2006. Innate Immunity of Fish (overview). Fish Shellfish Immunology, 20,137-151.
- Martin Aragon, S., Basabe, B., Benedi, J.M., Villar A.M. 1998. Antioxidant Action of *Vaccinium myrtillus* L. Phytotherapy Research, 12,104-106.
- Mercier, B., Prost, J., Prost, M. 2009. The Essential Oil of Turpentine and its Major Volatile Fraction ( $\alpha$ - and  $\beta$ -Pinenes): A Review. International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health, 22,331-342.
- Mesalhy, S.A., Mohammed, M.F., John, G. 2008. Echinacea as Immunostimulatory Agent in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) via Earthen Pond Experiment. 8<sup>th</sup> International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1033-1041.
- Nya, E.J., Brian, A. 2009. Use of Garlic, *Allium sativum*, to Control *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). Journal of Fish Diseases, 32(11), 963-970.
- Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Sarangi, N. 2007. Effect of *Allium sativum* on the Immunity and Survival of *Labeo rohita* Infected with *Aeromonas hydrophila*. Journal of Applied Ichthyology, 23,80-86.
- Sakai, M. 1999. Current Research Status of Fish Immunostimulants. Aquaculture, 1-2,63-92.
- Sarac N., Ugur, A., Duru, M.E. 2009. Antimicrobial Activity and Chemical Composition of the Essential Oils of *Thymbra spicata* var. *intricata*. International Journal of Green Pharmacy, 3,24.
- Tang, J., Cai, J., Liu, R., Wang, J., Lu, Y., Wu, Z., Jian, J. 2014. Immunostimulatory Effects of Artificial Feed Supplemented with a Chinese Herbal Mixture on *Oreochromis niloticus* against *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunology, 39,401.
- Tanrikul, T.T., Cagirgan, H., Toksen, E. 2004. Identification of Isolated *Vibrio* sp. from Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L. 1758) Using API 20 E System. EU. Journal of Fisheries and Aquatic Science, 21,243-247.
- Taylor, B.T. 1989. Marine Habitats, Bacteria. In: Lederberg, J., Alexander, M., Hopwood, D.A., Iglewski, B.H., Laskin, A.I., Editors. Encyclopedia of Microbiology. New York: Academic Press. 29-44 pp.
- Turkben, C., Barut, E., Incedayi, B. 2008. Investigation on Population of Blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.) in Uludağ (Mount Olympus) in Bursa, Turkey. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 21,41-44.
- Yeh, P., Chang, C.A., Chang, C.Y., Liu, C.H., Cheng, W. 2008. Dietary Sodium Alginate Administration Affects Fingerling Growth and Resistance to *Streptococcus* sp. and Iridovirus, and Juvenile Non-specific Immune Responses of the Orange-Spotted Grouper, *Epinephelus coioides*. Fish Shellfish Immunology, 25,19-27.
- Yin, G., Jeney, G., Racz, T., Pao, X., Jeney, Z. 2006. Effect of Two Chinese Herbs (*Astragalus radix* and *Scutellaria radix*) on Non-specific Immune Response of Tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture, 253,39-47.
- Zilberg, D., Tal, A., Froyman, N., Abutbul, S., Dudai, N., Golan-Goldhirsh, A. 2010. Dried Leaves of *Rosmarinus officinalis* as a Treatment for Streptococcosis in Tilapia. Journal of Fish Diseases, 33,361-369.

## Satışa Sunulan Bazı Su Ürünlerinin Biyojen Amin Düzeylerinin Araştırılması\*

Aynur KARSANDI, Şengül BİLGİN\*\*

Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama ve İşleme Teknolojisi Bölümü, Isparta

Geliş : 17.03.2016

Kabul : 21.04.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*\*Sorumlu Yazar: sengulbilgin@sdu.edu.tr

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Bu çalışmada satışa sunulan bazı su ürünlerinin biyojen amin düzeylerinin belirlenmesi amacıyla donmuş hamsi, taze palamut, donmuş halka palamut, ton balığı konserve, sardalya konserve, konserve limon soslu uskumru, sade uskumru konserve, taze levrek, taze uskumru ve soslu çipura filetoları materyal olarak seçilmiştir. Bu ürünler Isparta ilinde bulunan süper market ve taze olarak satış yapan balıkçılardan temin edilmiştir. Örnekler, biyojen amin analizleri yapılmak üzere Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi ve Analitik Kimya laboratuvarlarına gönderilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre taze balık örneklerinde biyojen amin oluşumu daha düşük seviyelerde iken konserve balık türlerinde bu oranın daha yüksek olduğu belirlenmiştir. TMA değeri sade uskumru konserveinde çok yüksek bulunmuştur. En yüksek histamin seviyesinin sardalya konserveinde ( $8.16 \pm 0.39$  mg/100g) bulunduğu görülmüştür. Amonyumun gruplar arasındaki değişimi önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ). Putresinin sardalya konserveinde en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir. Sonuç olarak tüm biyojen amin değerlerinin gruplara göre değişimleri önemli ( $P < 0,05$ ) bulunmuştur. Belirlenen biyojen amin seviyelerine bakıldığında örneklerin çoğunda insan sağlığı için risk oluşturabilecek bir seviyeye rastlanmamıştır.

*Anahtar kelimeler:* Su ürünleri, biyojenik aminler, histamin

### Investigation of The Biogenic Amine Concentrations In Some Seafood For Sale

#### Abstract

Some seafood (frozen anchovy, fresh bonito, frozen bonito ring, canned tuna, canned sardines, canned mackerel with lemon sauce, pure canned mackerel, fresh sea bass, fresh mackerel, sauced bream fillets) were selected to determine the level of biogenic amines. These products were supplied from supermarkets and fishmongers in Isparta. The samples were sent for biogenic amine analysis to Faculty of Fisheries, Seafood Processing Technology and Analytical Chemistry laboratories of Çukurova University. According to the results of this study, biogenic amine level was lower in fresh fish products than those in canned fish. TMA value was found to be very high in plain canned mackerel sample. The highest histamine level was detected in the canned sardines samples ( $8.16 \pm 0.39$  mg  $100g^{-1}$ ). The changes of amonium levels among the groups between the groups was significant ( $P < 0.05$ ). It was determined that putrescine level was the highest in the canned sardine. As a result, of the biogenic amine levels were found to be significant ( $P < 0.05$ ) and their levels do not pose a risk to human health according to the results of this study.

*Key words:* Seafood, biogenic amines, histamin

\*Bu çalışma yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.

## GİRİŞ

Su ürünleri tüketiminin insan sağlığı açısından birçok faydası bulunmakla birlikte, balık kasının bağ doku yapısının zayıf olması, yüksek enzim aktivitesi, pH değeri ve su

içeriğinin yüksek olması bu gıdaları hassas kılmaktadır. Balık kalitesinin, balığın türü, avlamanın yapıldığı bölge, uygulanan avlama teknikleri, teknede yapılan işlemler, uygulanan prosesler gibi nedenlerle etkilenebileceği belirtilmektedir (Serdaroğlu ve Deniz, 2001). Bunların yanısıra yassı balıkların silindirik balıklara, yağlı balıkların yağların daha hızlı okside olması sebebiyle yağsız balıklara ve yakalandığı anda tok olanların aç olanlara göre çok daha çabuk bozulmaya uğradığı bildirilmiştir (Stammen vd., 1990).

Yapılan bir çalışmada balıklardaki duyuşal, mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal yöntemlerle saptanabilen kalite değişimlerine yol açan faktörler, endojen (balık dokusu enzimleri) ve eksojen (çevre etkileri, mikroorganizmalar) olarak gruplandırılmıştır (Varlık, 1994). Hisar vd., (2004) balıklardaki mikrobiyolojik bozulmaların çok önemli olduğunu vurgulamış ve bu bozulmaların farklı şekillerde meydana gelebildiğini dile getirmiştir. Balığın canlı iken kas dokusunun steril durumda olduğu, avlamadan sonra, mikroorganizmalar ve enzimlerin serbest hale geçerek kas içine yayıldığı, kas dokusundaki mikroorganizma sayısının başlangıçta yavaş olup daha sonraları hızla arttığı ve bu gelişmenin balığın lezzet, koku ve tekstüründe değişiklikler yaparak bozulmaya neden olacağı vurgulanmıştır.

Balıklarda bulunan aminoasitlerin enzimatik dekarboksilasyonu ile bir çok aminli bileşikler oluşur. Dekarboksilaz enzimi için gerekli olan substrat serbest aminoasitlerdir. Bu nedenle balığın bozulması veya ayrışması süresince, bakteriyel üretim, aminoasit dekarboksilasyon faaliyeti ve proteoliz aktivitesinden dolayı amino asitler serbest kalır ve biyojenik aminler üretilir. Putresin, spermidin ve spermin hayvan ve bitkilerde sürekli bulunabilirken putresin ve spermidin çoğu bakteride az bulunur. Biyojen aminler amino asitlerin dekarboksilasyonu ile bakterilerin faaliyeti sonucu üretildiğinde biyojenik olarak isimlendirilirler. Bitkisel kökenli gıdalarda aminler normal yapıli bileşikler olarak görülmesine rağmen diğer gıdalarda bulunanların genelde depolama, olgunlaşma esnasında mikrobiyolojik aktiviteyle meydana geldiği bildirilmiştir (Vatansever, 2004).

Biyojen aminlerin isimlendirilmesinde, oluştuğu amino asitin adından faydalanılır. Örneğin histidinden histamin, tirosinden tiramin, ornitinden kadaverin, triptofandan triptamin oluşur. Serotonin, histamin ve tiramin gibi bazı “biyojenik” aminler insanlarda ve hayvanlarda birçok fizyolojik olayda etkili iken putresin, spermin ve spermidinin bitkilerde hücre bölünmesinde işlevleri vardır. Gıdalarda bulunanlar ise gıdaların bozulması ile ilgilidir (Uylaşer ve Konak, 2004).

Biyojen aminlerle ilgili insanlarda oluşan sağlık problemi genellikle histaminden kaynaklanan zehirlenme olaylarıdır. Mlcnervey vd., (1996)’in yapmış olduğu bir çalışmaya göre histamin zehirlenmesi de denilen Scombroid balık zehirlenmesinin genel olarak kas dokularında, bol miktarda histidin içeren *Scombridae* ve *Scomberosocidae* familyalarına ait bazı koyu renkli ete sahip balık türlerinin tüketimi ile ilişkili olan zehirlenme olarak bilinmektedir.

Histamin zehirlenmesi yüksek miktarda histamin içeren taze, donmuş veya konserve balıkların tüketimi sonucu ortaya çıkmaktadır (Çaklı ve Kışla 2003). Bugüne kadar yapılan birçok çalışmada histamin oluşumun daha çok hamsi, uskumru, somon, ton balığı gibi kırmızı etli (koyu etli) ve yağlı balıklarda ortaya çıktığı ve mezzit, kalkan gibi beyaz etli balıkların etlerinde histidin varlığına rastlanmadığı için bu balıklar ne kadar kötü koşullarda saklanacak olursa olsun histamin oluşumuna rastlanmayacağı bildirilmektedir (Köse, 1995).

Besleyici özellikleri nedeniyle insan beslenmesinde oldukça önemi olan su ürünleri taşıma, işleme, depolama sırasında kısacası avlandığı andan itibaren tüketici aşamasına kadar olan her aşamada soğukta muhafaza gerektiren hassas gıdalardır. Biyojen aminler bozulma sırasında oluşabilmekte ve bazen zehirlenme olaylarına zemin hazırlamaktadır. Balık ve balık ürünlerindeki biyojenik amin konsantrasyonu, insan sağlığı ve ürün kalitesini etkilediğinden dolayı bu değerlerin tespiti büyük bir önem arz etmektedir. Isparta ilinde bu konuyla ilgili henüz bir çalışma yapılmamıştır. Bu çalışmada satışa sunulan taze ve tüketime hazır bazı balıklardaki biyojen amin miktarlarının tespiti, insan sağlığı açısından risk oluşturup oluşturmadığının araştırılması hedeflenmiştir.

## **MATERYAL ve YÖNTEM**

Araştırmada materyal olarak farklı marketlerden alınan donmuş hamsi (A), taze palamut (B), donmuş halka palamut (C), ton balığı konservesi (D), sardalya konservesi (E), konserve limon soslu uskumru (F), uskumru konserve sade (G), taze levrek (S), taze uskumru (M), soslu çipura filetoları (K) Isparta ilinde bulunan süper market ve taze satış yapan balıkçılardan temin edilmiştir. Tüm balık örnekleri soğuk zincir kuralına uyularak Süleyman Demirel Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi Gıda laboratuvarına getirilip iç organları kontaminasyona izin verilmeden temizlenmiştir. Her bir gruptan 5 örnek (her biri 30g) hazırlanarak paketlenmiştir. Temin edilen materyaller mikrobiyal bir degradasyona uğramadan  $-18\pm 1$  derecede çalışan derin dondurucuya konmuştur. Elde edilen bu örnekler biyojen amin analizleri yapılmak üzere Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi İşleme Teknolojisi ve Analitik Kimya laboratuvarlarına soğuk zincir uygulanarak strafor kutu içerisinde gönderilmiştir.

### **Biyojen Amin Analizi İçin Örneğin Ekstrakte Edilmesi**

Balık etindeki biyojen amin üretimi, Özoğul vd., (2002) tarafından geliştirilen hızlı bir HPLC metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 5g balık kası alınarak 250 ml'lik ultraturax tüplerine aktarılmıştır. Örnekler sonrasında 20 ml % 6'lık TCA ile 2 dk Ultra-Turax (T 25 basic IKA-WERKE, Staufen, Germany) kullanılarak homojenize edilerek, Whatman No. 1 filtre kağıdı (Maidenstone, UK) ile filtre edilmiştir. Elde edilen solüsyon distile su ile 50 ml'ye tamamlanarak türevlendirme işlemine kadar derin dondurucuda ( $-18\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) muhafaza edilmiştir. Çalışmada kullanılan bütün biyojen amin standartları Sigma–Aldrich (Munich, Germany)'den sağlanmıştır. Triptamin hidroklorid (122,8 mg), putresin dihidroklorid (182,9 mg), 2-feniletilamin hidroklorid (130,1 mg), kadaverin dihidroklorid (171,4 mg), spermidin trihidroklorid (175,3 mg), spermin tetrahidroklorid (172,0 mg), histamin dihidroklorid (165,7 mg), tiramin hidroklorid (126,7 mg), 5- hidroksitriptamin (serotonin) (133,9 mg), 3-hidroksitiramin hidroklorid (dopamin) (123,8 mg), agmatin sülfat (175,4 mg), amonyum klorid (296,9 mg) ve trimetilamin hidroklorid (161,7 mg) 10 ml ultra saf suda çözdürülmüştür. Her bir amin için serbest bazın son konsantrasyonu 10 mg/ml olmuştur.

### **Balık Örneklerinin ve Standart Amin Solüsyonlarının Türevlendirme Prosedürü**

Türevlendirme maddesi olarak benzoil klorid kullanılmıştır. Standart amin solüsyonunu türevlendirmek için, her bir serbest baz standart solüsyonundan (10

mg/ml) 50 µl, (ekstrakte balık örneği için ise 2 ml) alınmıştır. Örnek üzerine 1 ml 2 M sodyum hidroksid ve 20 µl benzoil klorid (%2) eklendikten sonra 1 dk vortekste karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı 40 dk oda sıcaklığında ( $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) bırakılmıştır. Benzolasyon işlemi 2 ml doymuş sodyum hidroksit eki ile durdurularak, solüsyon iki kez 2 ml dietil eter ile ekstrakte edilmiştir. Karıştırma işleminden sonra üst organik faz temiz tüp içerisine alınarak azotta uçurulmuştur. Tüp içerisinde bulunan kalıntılar 1 ml asetonitrilde çözdürülerek, 1 µl örnek HPLC'e enjekte edilmiştir.

### **Kromatografik Koşullar**

Kromatografik ayırma asetonitril (çözücü A) ve HPLC ultra saf su (çözücü B) ile sürekli gradyanlı bir elüsyon kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayırma işlemi % 40 asetonitril ile başlamış ve daha sonra 20 dk içinde % 60' a kadar artırılmıştır. Toplam ayırma 20 dakika sürmüştür ve gradiyent tam ayrılma sağlamak için 25 dk süreyle çalıştırılmıştır. Biyojen amin ayırım işlemi gerçekleştikten sonra başlangıç koşula dönmek için program 1 dk almaktadır. Enjeksiyon seviyesi 10 µl olmuştur ve 254 nm'de okuma yapılmıştır (dalga boyu aralığı 220-400 nm). Biyojen amin analizi için bir SPD-M20A diode array dedektör, iki kanallı gradient pompa (Shimadzu LC-10AT), autosampler (SIL 20AC), kolon fırını (CTO- 20AC), FCV-11AL dalga birimli CBM-20A (communication bus module)'ya sahip Shimadzu Prominence HPLC cihazı (Kyoto, Japan) kullanılmıştır. Biyojen amin analizi için ters-fazlı Spherisorb 5 Si C18 pH-St, 250X4.6 mm kolon (Phenomenex, Macclesfield, Cheshire, UK) kullanılmıştır.

Taze ve işlenmiş balık örneklerinin biyojen amin miktarları, 0,05 önem derecesinde One-way Anova (Duncan) testi ile istatistiki olarak karşılaştırılmıştır (n:5).

### **BULGULAR ve TARTIŞMA**

Yapılan çalışma sonucunda balık türlerinde bulunan biyojen amin konsantrasyonları Tablo 1'de verilmiştir. Sonuçlara göre amonyum içeriği bakımından en yüksek değer ( $123,75\pm 0,63\text{mg}/100\text{g}$ ) sade uskumru konservesinde (G), en düşük değer ( $16,18\pm 0,41\text{mg}/100\text{g}$ ) taze palamutta (B) tespit edilmiştir. Amonyumun gruplar arasındaki değişimi önemli ( $P<0,05$ ) bulunmuştur (Tablo 1). Bu biyojen aminle ilgili herhangi bir limit değer bildirilmemiştir. Putresin biyojen amininin sardalya konservesinde (E) en yüksek değere ( $74,76\pm 0,68\text{ mg}/100\text{g}$ ) ulaştığı belirlenmiş olup gruplar arasında önemli ( $P<0,05$ ) bir değişim göstermiştir. Özoğul vd., (2006) buzda depolanan Avrupa yılan balığının kalite değerlendirmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada depolama süresine bağlı olarak 1.gün putresin seviyesini  $0,86\pm 0,17\text{ mg}/100\text{g}$ , 19. gün ise  $5,48\pm 1,10\text{ mg}/100\text{g}$  olarak ölçmüşlerdir. Buzsuz ortamda depolama yapıldığında aynı örnekte 1.gün  $1,18\pm 0,15$  olarak ölçülen değer 12. gün sonunda  $13,7\pm 3,11\text{ mg}/100\text{g}$ 'a ulaştığını görmüşlerdir. İki çalışma karşılaştırıldığında sardalya konservesi (E) örneğindeki putresin seviyesinin oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Çalışmada taze, donmuş ve konserve örnekler arasında en düşük putresin değeri ton balığı konservesinde (D), en yüksek sardalya konservesinde (E) tespit edilmiştir. Değerler arasındaki fark oldukça büyüktür. Çünkü her bir materyal satış reyonlarından alınmış olup herbirinin raf ömrü birbirinden farklıdır.



**Tablo 1.** Balık örneklerinde ölçülen biyojen amin seviyeleri (mg/100g)

	A	B	C	D	E	F	G	S	K	M
AMN	33,59±1,64 <sup>ef</sup>	16,18±0,41 <sup>h</sup>	36,01±0,74 <sup>e</sup>	42,59±0,78 <sup>d</sup>	69,32±1,40 <sup>c</sup>	82,31±0,97 <sup>b</sup>	123,75±0,63 <sup>a</sup>	33,16±0,34 <sup>f</sup>	34,14±0,57 <sup>ef</sup>	2071±0,30 <sup>g</sup>
PUT	16,32±0,55 <sup>b</sup>	5,76±0,41 <sup>ef</sup>	11,35±0,11 <sup>c</sup>	2,97±0,21 <sup>g</sup>	74,76±0,68 <sup>a</sup>	9,63±0,17 <sup>d</sup>	6,15±0,33 <sup>e</sup>	4,99±0,20 <sup>f</sup>	9,38±0,39 <sup>d</sup>	3,08±0,27 <sup>g</sup>
CAD	3,33±0,18 <sup>f</sup>	4,88±0,23 <sup>e</sup>	4,47±0,17 <sup>e</sup>	6,66±0,27 <sup>cd</sup>	6,74±0,18 <sup>c</sup>	4,36±0,12 <sup>e</sup>	7,39±0,16 <sup>b</sup>	9,56±0,16 <sup>a</sup>	6,10±0,29 <sup>d</sup>	3,42±0,15 <sup>f</sup>
SPD	32,25±0,82 <sup>c</sup>	20,45±0,49 <sup>d</sup>	34,78±0,68 <sup>b</sup>	31,24±0,53 <sup>c</sup>	50,81±0,63 <sup>a</sup>	18,63±0,35 <sup>d</sup>	19,88±0,76 <sup>d</sup>	20,49±0,70 <sup>d</sup>	32,13±0,59 <sup>c</sup>	12,79±0,58 <sup>e</sup>
TYRP	3,84±0,19 <sup>d</sup>	2,08±0,09 <sup>ef</sup>	4,53±0,13 <sup>bc</sup>	2,62±0,10 <sup>de</sup>	5,93±0,12 <sup>ab</sup>	6,22±0,22 <sup>a</sup>	3,36±0,10 <sup>cde</sup>	5,58±1,39 <sup>ab</sup>	1,13±0,46 <sup>fg</sup>	-
2-FNL	1,66±0,10 <sup>bc</sup>	3,45±0,15 <sup>a</sup>	1,22±0,74 <sup>c</sup>	0,24±0,24 <sup>d</sup>	2,33±0,16 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-
SPR	3,88±0,25 <sup>d</sup>	11,38±0,44 <sup>bcd</sup>	33,86±0,97 <sup>a</sup>	14,10±7,51 <sup>bc</sup>	18,25±0,43 <sup>b</sup>	7,35±0,21 <sup>cd</sup>	4,61±0,05 <sup>d</sup>	9,45±0,17 <sup>cd</sup>	16,94±0,56 <sup>b</sup>	8,78±0,16 <sup>cd</sup>
HIS	-	0,36±0,14 <sup>de</sup>	-	0,25±0,15 <sup>de</sup>	8,16±0,39 <sup>a</sup>	1,47±0,08 <sup>b</sup>	1,12±0,07 <sup>bc</sup>	0,47±0,29 <sup>de</sup>	0,78±0,32 <sup>cd</sup>	-
SER	1,97±0,03 <sup>fg</sup>	1,86±0,33 <sup>fg</sup>	2,87±0,25 <sup>e</sup>	2,43±0,11 <sup>ef</sup>	8,13±0,23 <sup>a</sup>	2,82±0,05 <sup>e</sup>	5,13±0,31 <sup>c</sup>	6,96±0,28 <sup>b</sup>	4,29±0,06 <sup>d</sup>	1,36±0,09 <sup>g</sup>
TYR	0,51±0,04 <sup>bc</sup>	0,06±0,06 <sup>c</sup>	0,07±0,07 <sup>c</sup>	0,26±0,16 <sup>c</sup>	1,34±0,05 <sup>a</sup>	1,00±0,61 <sup>ab</sup>	0,37±0,02 <sup>bc</sup>	-	0,55±0,14 <sup>bc</sup>	-
TMA	3,14±0,32 <sup>h</sup>	7,66±0,41 <sup>f</sup>	4,51±0,11 <sup>h</sup>	6,03±0,28 <sup>g</sup>	36,49±0,69 <sup>b</sup>	16,87±0,53 <sup>d</sup>	123,05±1,00 <sup>a</sup>	35,20±0,34 <sup>b</sup>	21,24±0,41 <sup>c</sup>	11,10±0,27 <sup>e</sup>
DOP	15,51±0,34 <sup>a</sup>	10,68±2,36 <sup>bc</sup>	11,29±0,66 <sup>b</sup>	6,75±0,22 <sup>de</sup>	2,03±0,84 <sup>f</sup>	9,32±0,17 <sup>bcd</sup>	8,58±0,46 <sup>cde</sup>	5,94±0,31 <sup>e</sup>	7,90±0,20 <sup>de</sup>	2,22±0,06 <sup>f</sup>
AGM	6,87±0,21 <sup>d</sup>	7,81±0,34 <sup>c</sup>	15,44±0,35 <sup>a</sup>	4,22±0,14 <sup>e</sup>	2,83±0,07 <sup>f</sup>	9,30±0,37 <sup>b</sup>	7,53±0,14 <sup>cd</sup>	7,63±0,18 <sup>c</sup>	7,29±0,23 <sup>cd</sup>	4,56±0,07 <sup>e</sup>

(-): Tespit edilemedi.

a-g; Bir kritere ait sütundaki farklı harfler, istatistiksel olarak ortalamalar arasındaki önemli farklılıkları göstermektedir (P<0.05).

Her bir değer, beş tekrarlı 10 Balık türünün (n = 5) ortalamasıdır.

Standart hata (±SH). HIS, histamin; PUT, putresin; CAD, kadaverin; SPD, spermidin; SPR, spermin; AGM, agmatin; TYR, tramin; TRYP, triptamin; 2- FNL, 2-fenilettilamin; TMA, trimetilamin; AMN, Amonium; DOP, dopamin

Kadaverin  $3,33\pm 0,18$  –  $9,56\pm 0,16$  mg/100g, spermidin  $12,79\pm 0,58$  –  $50,81\pm 0,63$  mg/100g aralığında tespit edilmiştir. Triptamin limon soslu uskumru konservesinde (F) en yüksek değerine ulaşmıştır. İncelenen tüm balık örnekleri içerisinde en yüksek pütresin, spermidin, histamin, serotonin ve tiramin değerleri sardalya konservesinde (E) tespit edilmiştir (Tablo 1). Tüm biyojen amin değerlerinin gruplara göre değişimleri önemli ( $P<0,05$ ) bulunmuştur.

Feniletılamin 5 örnekte (soslu ve sade uskumru konserve, taze uskumru ve taze levrek, soslu çipura fileto) tespit edilememiştir. En yüksek feniletılamin  $3,45\pm 0,15$ mg/100g değer ile taze palamutta (B) belirlenmiştir (Tablo 1). Toksikasyonun başladığı eşik değerleri feniletılamin için 30 mg/kg (30mg/1000g) gıda olarak bildirilmektedir (Alper ve Temiz, 2001). Buna göre taze palamutun feniletılamin değeri bakımından sınır değeri biraz geçtiği diğer örnekler için herhangi bir riskin olmadığı sonucu elde edilmiştir.

Yapılan çalışmada örneklerden donmuş hamsi (A), donmuş halka palamut (C) ve taze uskumruda (M) histamin konsantrasyonuna hiç rastlanmazken en yüksek histamin seviyesi  $8,16\pm 0,39$  mg/100g ortalama değer ile sardalya konservesinde (E) görülmektedir (Tablo 1). Histamin gıda zehirlenmesi açısından önemli bir biyojen amindir. Bununla ilgili farklı limit değerler bildirilmiştir. 5mg/100g histamin değeri için güvenli, 5-20mg/100g muhtemel toksik, 20-100mg/100g büyük olasılıkla toksik ve >100 mg/100 g toksik olarak belirtilmiştir. AB histamin için limit değeri 10mg/100g olarak bildirirken FDA bu değeri (5mg/100g) olarak rapor etmiştir (Özoğul vd., 2004). FDA limitlerine göre sardalya konservesinde (E) elde edilen Histamin içeriğinin limit değeri aştığı görülmektedir (Tablo 1). Başka bir çalışmada limit değerin 10-100mg/100g aralığında olabileceği bildirilmiştir (Alper ve Temiz, 2001). Buna göre ve AB limit değerlerine göre, genel olarak histamin içeriği bakımından çalışılan tüm balık örneklerinde riskin sözkonusu olmadığı anlaşılmaktadır.

Ökten, (2007) yapmış olduğu bir çalışmada gıdalarda, histamin dışında diğer biyojen aminler için belirlenmiş yasal limit değerler bulunmadığını fakat birkaç ülkede, sadece balık ve balık ürünlerinde histamin için yasal değerler mevcut olduğunu bildirmiştir. Ayrıca A.B.D.'nde, yine histamin için son düzenlemelere göre, ton balığı ve bununla ilişkili türlerde izin verilen maksimum doz 0,5 mg/100g olduğu bildirilmektedir. Ülkemizde ise Gıda Kodeksi'ne göre, histamin miktarının balıklarda 20 mg/100g'ı aşmaması gerektiği bilinmektedir (Ökten, 2007).

Balık konservelerinde histamin ve pH düzeylerinin belirlenmesi üzerine yapılan bir çalışmada ton, uskumru ve sardalya olmak üzere üç farklı balık çeşidine ait toplamda 28 örnek incelenmiş olup ortalama histamin değerleri  $27,05\pm 12,32$  olarak tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda belirlenen histamin düzeylerinin toksik düzey olarak kabul edilen 50 mg/100 g'dan daha düşük olduğu bildirilmiştir (Duyar ve Ekici, 2011).

Zare vd. (2015)'nin yaptıkları çalışmada bazı su ürünlerindeki üronik asidin, histamin toksisitesi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışma için temin edilen tuzlanmış balık, tuzlanmış karides ve ezme karides örneklerindeki histamin içeriği sırasıyla,  $1,42\pm 1,10$ ,  $3,66\pm 2,25$  ve  $0,696\pm 1,87$  mg/100g olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre pH'nın histamin oluşumu üzerinde fazla bir etki göstermediği bildirilmektedir.

Ababouch vd. (1996) Fas'ta ticari olarak işlenmiş çeşitli balık türlerinin histamin düzeylerini belirlemek üzere yaptıkları çalışmada yüksek düzeyde histamin konsantrasyonlarına rastlamışlar ve bunun balığın uygun olmayan koşullarda işlenme

ve depolanmasından kaynaklanmış olabileceğini belirtmişlerdir. Alper ve Temiz, (2001) balıklarda özellikle histamin oluşumuna rastlandığını, ısıya dirençli oluşu nedeniyle taze balık yanında balık konservelerinde de bulunabildiğini, konserve balıklarda toksik etki oluşturacak miktarlarda histamin bulunmasının, hammadde olarak hijyenik kalitesi düşük balık kullanılması veya taze balığın uygun olmayan koşullarda bekletilmesi ve/veya yanlış işlem görmesi nedenleriyle meydana geldiğini, konserve balıklarda histamin miktarlarının, işlem aşamalarından, sterilizasyon öncesi depolamadan ve hijyenik koşullardan etkilendiğini ifade etmişlerdir.

Ababouch vd. (1996) bir kısmını buzdolabında, bir kısmını oda sıcaklığında depoladıkları sardalya örneklerinde oda sıcaklığında 24 saat muhafaza edildikten sonra histamin seviyesinin 2350 ppm'e (1 ppm = 0,1 mg/100g) ulaşırken, buzdolabında depolanan örneklerdeki histamin seviyelerinin bu düzeye 8 gün sonra ulaşıldığını bildirmişlerdir.

Spermin  $3,88 \pm 0,25 - 33,86 \pm 0,97$  mg/100g aralığında belirlenmiştir. Tiramin taze levrek (S) ve taze uskumru (M) örneklerinde tespit edilememiştir. Tiramin için eşik değer 100-800mg/100g olarak bildirilmiştir (Özoğul vd., 2004). Çalışmada elde edilen tiramin değerleri eşik değerinin çok altında bulunmuştur. Serotonin biyojen amini  $1,36 \pm 0,09 - 8,13 \pm 0,23$  aralığında belirlenmiş olup en yüksek değer sardalya konservesinde (E) belirlenmiştir.

Tüm balık örneklerinde TMA içeriği yüksek düzeylerde tespit edilmiştir. TMA değeri sade uskumru konserve (G) örneğinde aşırı yüksek oranda tespit edildiği için bu örneğin tüketilebilirliği açısından risk oluşturmaktadır. Aynı örneğin amonyum içeriği de TMA'ya paralel bir şekilde en yüksek oranda belirlenmiştir. Sardalya konservesi (E) ve taze levrek (S) örneklerinde de TMA diğerlerine göre yüksek bulunmuştur. Özoğul vd., (2011) iki farklı bitki ekstraktı uygulamasının sardalya filetoalarında biyojen amin oluşumuna etkisini araştırdıkları çalışmalarında TMA içeriğinin kontrol grubunda buzdolabı koşullarında depolamanın 10. gününden itibaren artış gösterdiğini 20. günde  $33,04 \text{ mg}/100\text{g}$ 'a ulaştığını tespit etmişlerdir. Taze sardalya filetosundaki bu TMA değerine karşılık bu çalışmada 2 örnekte (sardalya konserve, taze levrek) yakın değerler elde edilmiştir. Ancak sade uskumru konservesinde (G) bu değerlerin çok üzerinde TMA'ya rastlanılmıştır.

Dopamin düzeyi en yüksek oranda ( $15,51 \pm 0,34$  mg /100g) donmuş hamside (A), agmatin düzeyi en yüksek değerde ( $15,44 \pm 0,35 \text{ mg}/100\text{g}$ ) donmuş palamut örneklerinde (C) saptanmıştır (Tablo 1). Yapılan bir çalışmada 0, 3, 5 ve  $15^\circ\text{C}$ 'de depolanan mürekkep balığı kaslarındaki agmatin, depolamanın ilk evrelerinde düşük seviyelerde gözlenmiştir. Fakat agmatin konsantrasyonu depolama süresiyle ilişkili olarak artmıştır. Bu değer bozulma evresinin başlangıcında  $30 \text{ mg}/100\text{g}$ 'a, bozulma evresinin ilerlemesiyle  $40 \text{ mg}/100\text{g}$ 'a ulaşmıştır (Özoğul vd., 2004). Bu çalışma sonuçları ile Isparta'daki su ürünlerinin agmatin sonuçları farklılık göstermiş, daha düşük değerler sergilediği görülmüştür.

Yapılan çalışmalar düşük sıcaklıkta depolanan su ürünlerinde biyojen amin oluşum riskinin az olduğunu göstermektedir. Öksüztepe ve Beyazgül, (2015) yapmış oldukları bir çalışmada akıllı ambalajlama sistemleri ve bu sistemlerin gıdalardaki biyojen amin oluşumu üzerindeki etkisini ve gıda güvenliği açısından sağlayabileceği faydaları araştırmışlardır. Yapılan araştırma sonucunda gıda ürünlerinin üretimden tüketime kadar olan tüm aşamalarında gerekli kontrol önlemlerinin alınmasının, hem tüketicilerin sağlığının korunması hem de ekonomik kayıpların önüne geçilmesinin sağlanabilmesi için akıllı ambalajlama teknolojisinin büyük bir önem arz ettiğini

vurgulamışlardır. Ayrıca akıllı ambalajlama sistemlerinin mikrobiyolojik bozulmaların ve toksik maddelerin hızlı ve etkin bir şekilde tespit edilebilmesi ve bu sayede bu ürünlerin tüketiminin önlenmesinin sağlanabileceğini bildirmişlerdir.

Avrupa ülkelerinde en popüler gıda olan su ürünlerinin tazeliği, hem üreticiler hem de tüketiciler açısından oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle sürekli olarak sektörün isteklerine cevap verecek daha hızlı ve daha yüksek standartlara sahip kalite kontrol yöntemlerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır (Oğur, 2015).

Sonuç olarak yapılan çalışmada tüm elde edilen biyojen amin sonuçları değerlendirildiğinde TMA değeri açısından sade uskumru konservesinin (G) riskli olduğu, bunun yanı sıra sardalya konservesi ve taze levreğin yüksek değerler sergilediği, histaminin 3 örnekte (donmuş hamsi-A, donmuş palamut-C ve taze uskumru-M) tespit edilmediği, sardalya konservesinde (E) FDA'nın bildirdiği limit değerini aştığı (8,16mg/100g) ancak bu değer AB ve ülkemiz için verilen limitler dahilinde kaldığı dolayısıyla da histamin değeri bakımından herhangi bir riskin söz konusu olmadığı sonucu elde edilmiştir. Balık ve balık ürünlerinde bakteriyel faaliyet sonucu üretilen histamin, agmatin, putresini tyramin, kadeverin gibi biyojen aminlerin yüksek dozları tüketici açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle balık ve ürünlerinin hazırlanması, taşınması işlenmesi aşamalarında bakteriyel faaliyetin minimuma indirilebilmesi için soğuk zincir uygulayarak hijyenik ortamda üretim yapılması önem arz etmektedir.

## KAYNAKLAR

- Ababouch, L., H., Souibri, L., Rhaliby, K., Ouahdi, O., Battal M., Busta, F. 1996. Quality Changes in Sardines (*Sardina pilchardus*) Stored in Ice and at Ambient Temperature. *Food Microbiology*, 13, 123–132.
- Alper, N., Temiz, A. 2001. Gıdalardaki Biyojen Aminler ve Önemi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 58(2), 71- 80.
- Çaklı, Ş., Kışla, D., 2003. Su Ürünlerinde Mikrobiyal Kökenli Bozulmalar ve Önleme Yöntemleri, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 20,(1-2), 239 – 245.
- Duyar, H.A., Ekici, K. 2011. Balık Konservelerinde Histamin ve pH Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Çalışma. *YYU Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22 (2), 71 – 74.
- Hisar, A.Ş., Hisar O., Yanık, T. 2004. Balıklarda Mikrobiyolojik, Enzimatik ve Kimyasal Bozulmalar. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3-4), 261-265.
- Köse, S. 1995. Su Ürünlerinden Kaynaklanan Histamin Zehirlenmesi ve Önemi, Doğu Anadolu Bölgesi II. Su Ürünleri Sempozyumu, Erzurum.
- Mlcnervey, J.M.D., Sahgal-Punnet, M.D., Vogel-Mitchel, M.D., Rahn-Elsa, M.D., Jones-Ernesto, MD. 1996. Scombroid Poisoning. *Annals of Emergency Medicine*, 28(2), 235-238 .
- Oğur, S. 2015. Su Ürünleri Kalitesinin Değerlendirilmesinde Koku Algılama Sensörlerinin Geliştirilmesi ve Uygulamaları, *Journal of Food and Health Science*, 1(1), 1-11.
- Öksüztepe, G., Beyazgül, P. 2015. Akıllı Ambalajlama Sistemleri ve Gıda Güvenliği. *Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 29 (1), 67–74.
- Ökten, B. 2007. İthal Edilen Ton Balıklarının Histamin, Ağır Metal İçerikleri ve Mikrobiyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Rapor no: 0058374
- Özoğul, F., Taylor, K.D.A., Quantick, P., Özoğul, Y. 2002. Biogenic Amines Formation In Atlantic Herring (*Clupea harengus*) Stored Under Modified Atmosphere Packaging Using A. Rapid HPLC Method. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(5), 515–522.

- Özoğul, F., Küley E., Özoğul Y. 2004. Balık ve Balık Ürünlerinde Oluşan Biyojenik Aminler, E.Ü. Su Ürünleri Dergisi, 21(3-4), 375-381.
- Özoğul, Y., Özoğul, F., Küley, E., Öztürk, A.S., Gökbulut, C. Köse, S. 2006. Biochemical, Sensory and Microbiological Attributes of Wild Turbot (*Scophthalmus maximus*), from the Black Sea During Chilled Storage. Food Chemistry (99), 752-758.
- Özoğul, F., Kuley,E., Kenar,M. 2011. Effects Of Rosemary And Sage Tea Extract on Biogenic Amines Formation of Sardine (*Sardina pilchardus*) Fillets. International Journal of Food Science & Technology. 46,761-766.
- Serdaroğlu, M., Deniz, E. 2001. Balıklarda ve Bazı Su Ürünlerinde Trimetilamin (TMA) ve Dimetilamin (DMA) Oluşumunu Etkileyen Koşullar, E.U. Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 18(3-4), 575 – 581.
- Stammen, K., Gerdes, D., Caporosa, F. 1990. Modified Atmosphere Packaging of Seafood. CRC Crit. Rev. Food. Sci. Nutr., 29, 301- 331.
- Uylaşer, V., Konak, A. 2004. Gıdalardaki Biyojen Aminler ve İnsan Sağlığı Açısından Önemi, Gıda ve Yem Bilimi – Teknolojisi Dergisi, (6).
- Varlık, C. 1994. Soğukta Depolanan Sardalyalarda Histamin Düzeyinin Belirlenmesi. Gıda Teknolojisi, 19, 2, 119- 124.
- Vatansever, L. 2004. Et ve Et Ürünlerinde Biyojenik Aminler. Kafkas Üniversitesi, Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 10(2), 203-208.
- Zare, D., Muhammad, K., Bejo, M. H., Ghazali, H. M. 2015. Determination of Urocanic Acid, a Compound Implicated in Histamine Toxicity and Assessment of Biogenic Amines Relative to Urocanic Acid Content in Selected Fish and Fish Products. Journal of Food Composition and Analysis, 37, 95–103.

## Thiacloprid ve D-Tubokurarin'in Kurbağa İskelet Kası Üzerine Ultrastrüktürel Etkileri\*

Yusuf ÇAMLICA<sup>1\*\*</sup>, Esra PEKOĞLU<sup>1</sup>, Şakir Necat YILMAZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mersin

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin

Geliş : 29.03.2016

Kabul : 25.05.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*\*Sorumlu Yazar: ycamlica@mersin.edu.tr

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Bu çalışmada, neonicotinoid bir insektisit olan thiacloprid ve bir neonicotinoid insektisit antagonisti olan d-tubokurarin'in *Pelophylax ridibundus* iskelet kası üzerine meydana getirdiği ultrastrüktürel değişiklikler incelendi.

Kurbağalar spinal hale getirildikten sonra gastrocnemius kası izole edilmiştir. Kas doku 120 dakika boyunca  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  ve  $1 \times 10^{-6}$  M olmak üzere dört farklı konsantrasyonda thiacloprid çözeltisi ile muamele edildi. Ayrıca, kas dokuları üzerine  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin ile  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid karışımı ve  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin ile  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid karışımı 120 dakika süresince uygulandı. Kontrol grubundaki kas dokuları 120 dakika boyunca Ringer çözeltisinde bekletildi. Tüm deney gruplarında agonist ve antagonistin etkileri eşit sayıda denek üzerinde çalışıldı (n=3).

Elektron mikroskobu ile yapılan histolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubunda herhangi bir dejenerasyon bulgusuna rastlanmadı. Thiacloprid'in  $10^{-3}$  ve  $10^{-4}$  M olarak uygulanan yüksek dozlarında, kas dokusunun sarkomer bütünlüğünün bozulduğu, miyofibrillerin ayrıldığı ve mitokondriyonların şiştiği tespit edildi. Diğer doz gruplarında ise daha hafif düzeyde dejenerasyon bulguları gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** İskelet kası, kurbağa, thiacloprid, d-tubokurarin, histoloji

### Ultrastructural Effects of Thiacloprid and D-Tubocurarine on Frog Skeletal Muscle

#### Abstract

In this study, the ultrastructural alterations of neonicotinoid insecticide thiacloprid and its antagonist d-tubocurarine on skeletal muscle of *Pelophylax ridibundus* were investigated.

Gastrocnemius muscle was isolated after frogs were decapitated. Muscle tissue was exposed to thiacloprid solution at four different concentrations ( $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  and  $1 \times 10^{-6}$  M) for 120 minutes. In addition,  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubocurarine  $1 \times 10^{-5}$  and  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid mixture as well as mixture of d-tubocurarine and  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid were applied for 120 minutes on muscle tissue. Muscle tissue in the control group was maintained in Ringer's solution for 120 minutes. The agonist and antagonist effects were studied in all experimental groups with equal number of subjects (n = 3).

The results of histological examinations performed by electron microscopy did not reveal any signs of degeneration on the control group. It was determined that the high level exposure as  $10^{-3}$  and  $10^{-4}$  M of thiacloprid was resulted in the breakdown of sarcomere integrity of muscle tissue, separation of the myofibrils and swelling of mitochondrion. Milder signs of degeneration were observed in the other dose groups.

**Key Words:** Skeletal muscle, frog, thiacloprid, d-tubocurarine, histology.

**\*Bu çalışma, Yüksek lisans tezinden özetlenmiştir**

## GİRİŞ

Pestisitler, çeşitli alanlarda ürün zararlılarını öldüren ya da uzaklaştıran kimyasal maddelerdir (Toros vd., 1999; Vural, 2005). Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere

uygulanan pestisitler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır (Whitacre, 2004 ve Vural, 2005; Ware). Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini etkileyen faktörler, onun fiziksel özellikleri, kimyasal yapısı, uygulama şekli, formülasyon tipi, iklim ve tarımsal koşullardır (Toros vd., 1999; Güner, 2014). Bitki örtüsü, arazinin eğimi, toprak tipi, formülasyon ve yağış miktarına bağlı olarak taşınan pestisitler, bu sulara balık ve diğer omurgasız su organizmalarının ölmesine, bu organizmalardaki pestisit kalıntılarının insanların gıda zincirine girmesine ve kontamine olmuş suların içilmesiyle kronik toksisitenin oluşmasına neden olurlar (Stenersen, 2004; Ware ve Whitacre, 2004). Toprağa geçen pestisitler güneş ışınlarının etkisiyle fotokimyasal bozulmaya uğrarken bitki, toprak mikroorganizmaları ve diğer organizmaların etkisiyle biyolojik indirgenmeye uğramakta, kil ve organik madde gibi toprak katı maddeleri tarafından tutulmakta veya kimyasal bozulmaya uğramaktadırlar (Lu, 1996; Güner, 2014). Toprakta pestisitinin tutulmasıyla biyolojik alınımı ve hareketi engellenmekte ve çeşitli şekillerde indirgenmesi ile ya toksik özelliğini kaybetmekte ya da daha toksik metabolitlerine dönüşebilmektedir (Pimentel vd., 1998; Ware ve Whitacre, 2004; Güner, 2014). Pestisitleri ürün zararlılarına karşı kullanırken, kendisinin ya da toksik dönüşüm ürünlerinin hedef olmayan yerleri yada canlıları etkilemesi istenmediğinden, bütün bu süreçlerin bilinmesi ve incelenmesi önem taşımaktadır (Pimentel vd., 1998; Güner, 2014).

Pestisitler kontrol amacıyla kullanıldıkları zararlı tipine göre fungusitler, algisitler, herbisitler, insektisitler, nematositler ve molluskusitler olarak sınıflandırılırlar (Pimentel vd., 1998; Stenersen, 2004). İnsektisitler, böceklerin kontrolünde kullanılan biyolojik ya da kimyasal orjinli ajanlar olup, böceklere karşı kullanılan en yaygın pestisit grubudur (Ware ve Whitacre, 2004). Bunların hemen hepsi nörotoksik özelliktedir. İnsektisitler; klorlu hidrokarbonlular, organofosforlu bileşikler, metilkarbamatlar, piretroidler ve neonikotinoid insektisitler olmak üzere beş ana gruba ayrılırlar (Lu, 1996; Vural, 2005). Neonikotinoid insektisitler, bitki ve hayvanlar üzerindeki zararlı böcekleri kontrol altında tutan, son yıllarda üretilmiş en önemli yeni sentetik insektisit sınıfıdır (Tomizawa ve Casida, 2003). Thiacloprid neonikotinoid bileşenler sınıfına ait yeni bir pestisittir. İşığa dayanıklılığının iyi olması (Mullins, 1993; Kagabu ve Medej, 1995; Kagabu, 1997; Kagabu ve Akagi, 1997) ve omurgalılara göre böcekler gibi omurgasızlar üzerine yüksek seçici toksisiteye sahip olması, bu insektisitinin dünya çapında yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Zwart vd., 1992; 1994; Nauen, 1995). Neonikotinoid teriminden de anlaşılacağı gibi thiacloprid, nikotine yapısal benzerliği olan ve aynı etkiyi gösteren bir bileşiktir (Tomizawa ve Yamamoto, 1993).

Pestisitlerin, hedef olmayan organizmalar üzerindeki toksik etkisi ve ekosisteme olan etkileri dünya çapında ilgilenilen bir konudur (Pimentel vd., 1998). Kullanılan pestisitler gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır ve pestisitlerin hedef olmayan canlılar üzerindeki potansiyel toksik risk değerlerinin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle su ve tarım ekosistemlerindeki hedef olmayan organizmalar üzerine olan etkileri tamamen anlaşılmiş değildir. Amphibiler su ve tarım ekosistemleri içerisinde önemli organizmalardır ve birçok tarım pestisitinin etkisine maruz kalmaktadırlar (Feng vd., 2004). Amphibiler, larva yaşamlarını sucul ortamda geçirmeleri nedeniyle habitatlarındaki değişikliklere olan duyarlılıkları sayesinde su ve tarım ekosistemlerin biyoindikatörleri olarak göze çarparlar. Bu nedenle su ve tarım ekosistemleri üzerinde çeşitli kimyasalların etkilerini ölçmek için kullanılan tipik test hayvanlarıdır (Pollet ve Bendell-Young, 2000).

Pestisitlerin kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuvcu etkileri saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bir tarım ülkesi olan Türkiye’de insektisitlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. İnsektisitler başta olmak üzere, tarım ilaçları suda, toprakta, meyve ve sebzeler üzerinde uzun süre bozulmadan kalarak çevre kirliliğine neden olmakta ve besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşabilen çeşitli zararlar oluşturmaktadır (MacMahon, 1994; Vural, 2005).

Bu çalışmanın amacı, tarım ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılan bir insektisit olan thiacloprid’in, kurbağa iskelet kası üzerine toksik etkilerinin elektron mikroskopik yöntemlerle belirlenmesidir. Bunun yanı sıra, thiacloprid ile bir neonicotinoid antagonisti olan d-tubokurarin karışımının, kas dokusu üzerine etkisinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi de amaçlanmıştır. Bu çalışmanın, insektisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerine etkisinin belirlenerek, ürün zararlılarına karşı alternatif yöntemlerin geliştirilmesine katkı yapması beklenmektedir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Deneylerde Mersin Müftü Deresi’nden yakalanan ve ağırlıkları 50-60 g arasında değişen 21 adet kurbağa (*Pelophylax ridibundus*) kullanıldı. Kurbağalar, dere suyu bulunan akvaryuma yerleştirildi ve adaptasyon sağlamaları amacıyla deneyler başlamadan önceki bir hafta boyunca laboratuvarda bekletildi. Akvaryum suyu, gün aşırı değiştirildi ve sıcaklığı 25-27°C’de tutuldu. Adaptasyon sürecinden sonra kurbağalar, kulak arkasından kesilerek spinal hale getirildi ve olası refleksleri önlemek amacıyla ince bir tel yardımıyla medulla spinalis tahrip edildi. Kurbağaların, sağ arka bacağındaki gastrokinemius kası izole edilerek, fizyolojik ortamın sağlanması için kullanılan Ringer çözeltisine alındı. Bu çalışmada kullanılan deney hayvanları için, Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun (HADYEK) 27.03.2014 tarih ve 2014/9 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır. Kurbağalara yapılan tüm işlemlerde, National Institutes of Health (NIH) tarafından hazırlanan laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım rehberinde belirtilen kriterler uygulanmıştır.

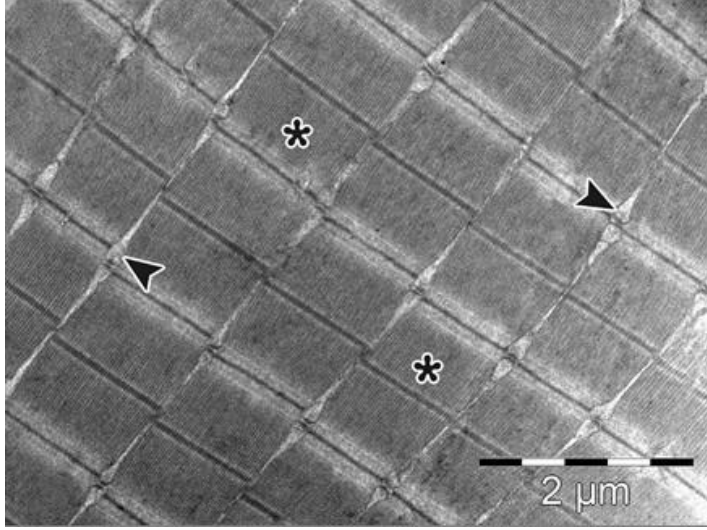
Gastrokinemius kası 120 dakika boyunca  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  ve  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid çözeltisinde,  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin karışımı ve  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin karışımında bekletildi. Kas dokusuna uygulanan kimyasal solüsyonlar, soğukkanlı canlıların dokularının devamlılığını sürdürmesi için gerekli olan Ringer çözeltisi içerisinde hazırlandı. Kontrol grubundaki kas dokuları ise, 120 dakika süresince Ringer çözeltisinde bekletildi. Tüm deney gruplarında agonist ve antagonistin etkileri eşit sayıda denek üzerinde çalışıldı (n=3).

Elektron mikroskopik inceleme için alınan iskelet kası dokuları,  $1 \text{ mm}^3$ ’lük parçalara bölündü ve 6 saat %2,5’luk glutaraldehit solüsyonunda bekletildi. Kas doku, fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra, Leica EM TP (Leica Microsystems GmbH, Viyana, Avusturya) cihazı kullanılarak elektron mikroskopik incelemeler için standart doku takip işlemi uygulandı (Hayat, 2000). Epoksi resin içine gömülen dokulardan, Leica Ultracut UCT 125 ultramikrotom (Leica Microsystems GmbH, Viyana, Avusturya) ile önce 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alındı ve kesitler incelenerek uygun alanlar saptandı, daha sonra 70 nm kalınlığındaki kesitler 300 gözenekli bakır gridler üzerine alındı. Dokular, uranil asetat ve kurşun sitratla kontrastlama yapıldıktan sonra (Hayat, 2000), JEOL JEM-1011 transmisyon elektron mikroskopuna (JEOL Ltd. Tokyo-Japonya) entegre megaview III dijital kamera (Olympus GmbH, Almanya) ile fotoğraflanarak değerlendirildi.



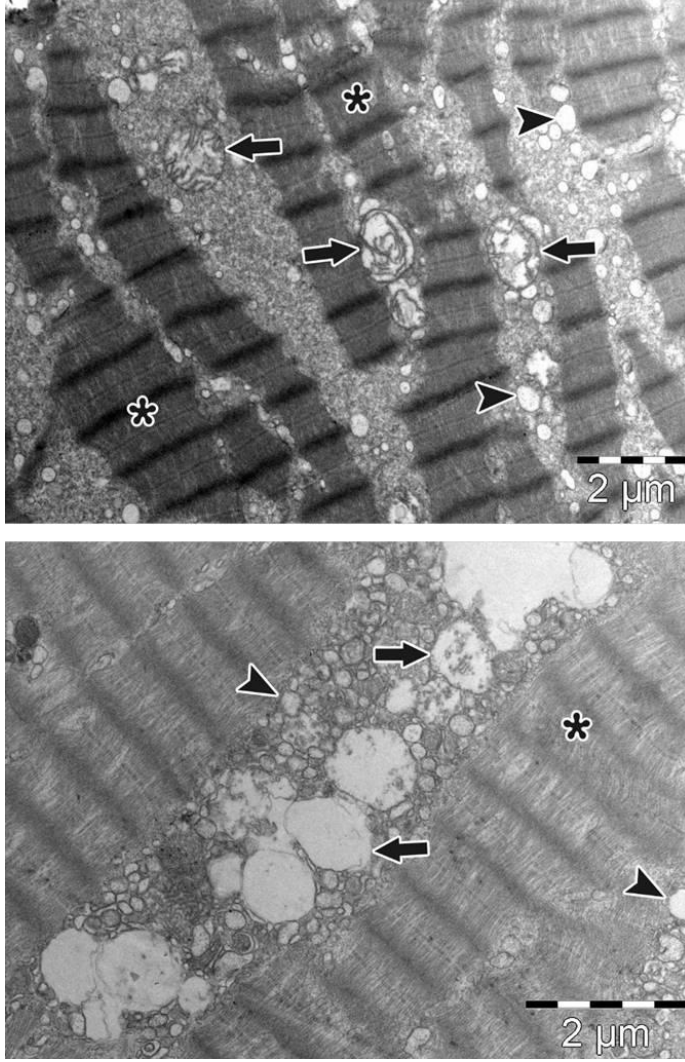
## BULGULAR

Kontrol grubunda *P. ridibundus* gastrokinemius kası hücrelerinin sarkomer yapıları, miyofibril ve miyofilaman organizasyonları normal görünümündedir. Hücrelerdeki mitokondriyon, sarkoplazmik retikulum ve T tübüllerinde herhangi bir dejenerasyon bulgusuna rastlanmadı (Şekil 1).



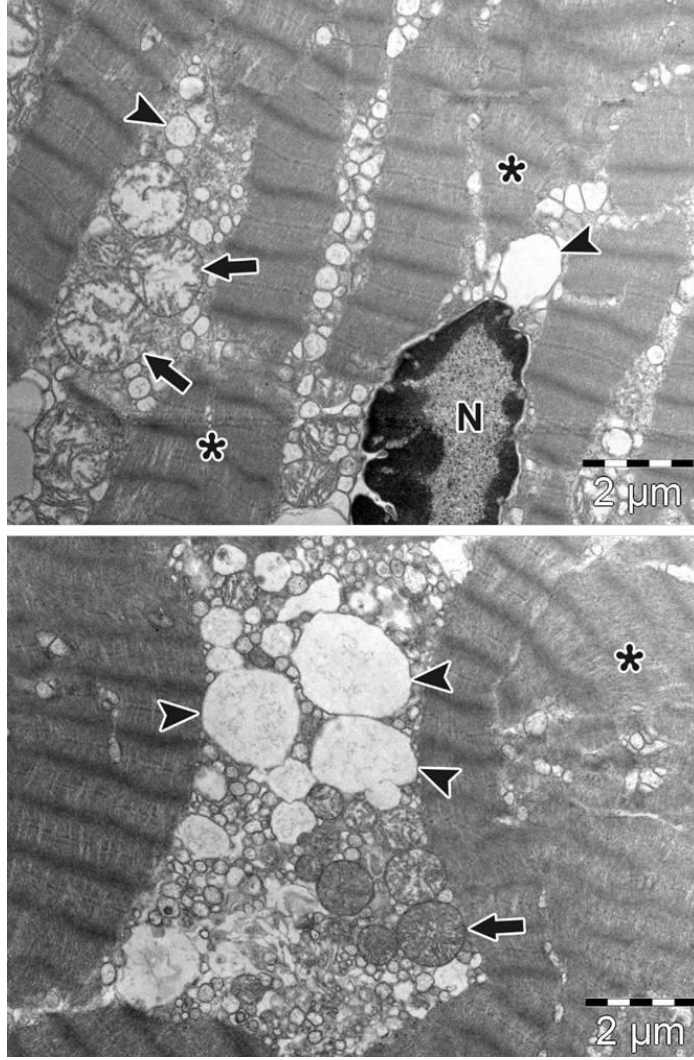
**Şekil 1.** Kontrol grubu. Bütünüyle normal görünüme sahip SER sisternalarını (ok başı), miyofilamanları ve miyofibrilleri (yıldız) içeren kas hücreleri (X20.000).

$1 \times 10^{-3}$  M thiaclopid uygulanan gastrokinemius kasında ağır dejeneratif bulgular tespit edildi. Kas hücrelerinin sarkomer bütünlüğünün bozulduğu ve dağınık bir görünüme sahip olduğu gözlemlendi. Yüksek dozda uygulanan insektisit, miyofibrillerin ve onları oluşturan miyofilamanların ayrılmasına ve düzensiz olarak izlenmesine neden olmuştur. Hücrelerin mitokondriyonlarında şişme, krista ve matrikslerinde dağılma ve parçalanma mevcuttur. Ayrıca, hücrelerin içinde düz yüzlü endoplazmik retikulum (SER) genişlemelerine bağlı olduğu düşünülen çok sayıda vakuol yapısı da bulunmaktadır (Şekil 2).



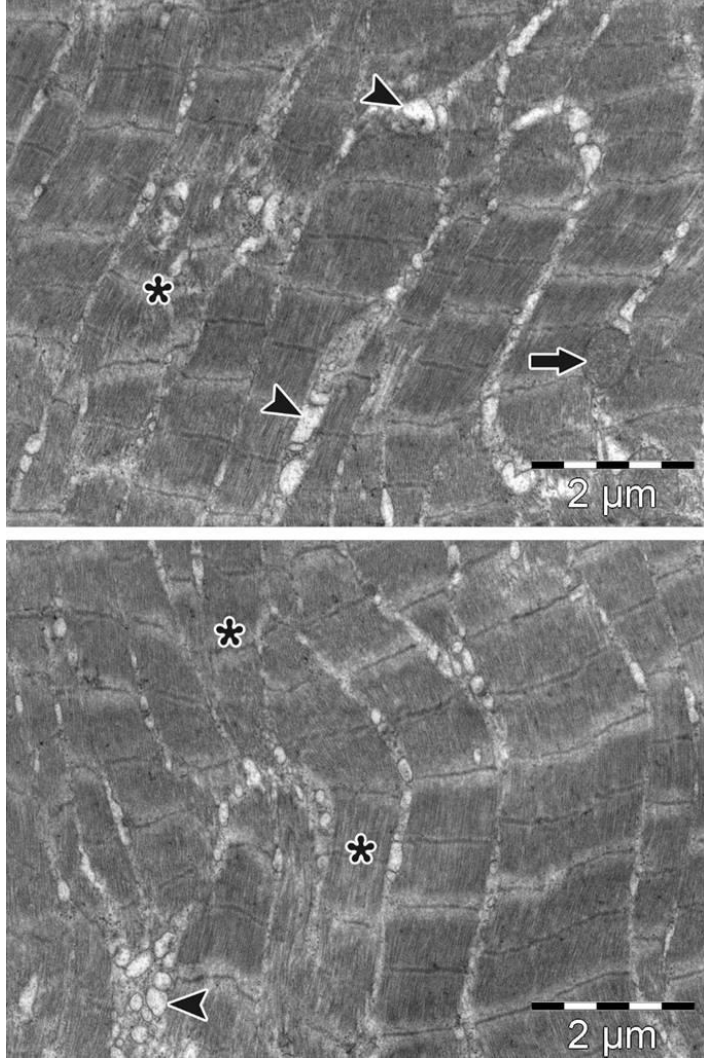
**Şekil 2.**  $1 \times 10^{-3}$  M thiacloprid. Dağınık ve parçalanmış halde miyofibriller (yıldız), şişmiş ve içyapısı bozulmuş mitokondriyonlar (ok), genişlemiş SER sisternaları (ok başı).

$1 \times 10^{-4}$  M thiacloprid uygulanan grupta da ağır dejeneratif bulgular gözlemlendi. Mitokondriyonlarda şişme, krista ve matris yapılarında bozulma ve kayıp görüldü. Miyofilamanlar dalgalı ve dağınık görünümde olup, miyofibrillerin düzenlenişi ise dejeneratif olarak değerlendirilmiştir. Granüler materyal içeren bir sitoplazma içinde SER genişlemelerine bağlı çok sayıda vakuol izlendi. Sarkomer yapıları kısmen korunmakla birlikte yer yer dağılmıştır. Kas dokunun miyofibril ve miyofilamanlarında ayrılmalar bulunmaktadır. Nükleer membrana çökmüş heterokromatin ile karakterize apoptotik çekirdeklere de rastlandı (Şekil 3).



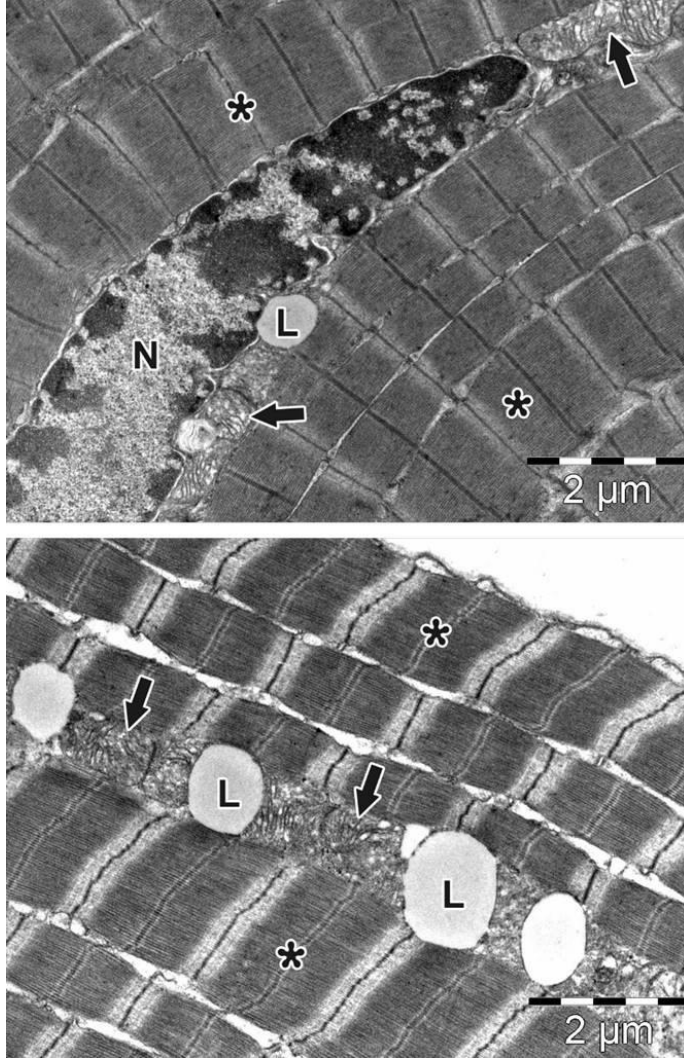
**Şekil 3.**  $1 \times 10^{-4}$  M thiacloprid. Dağınık ve parçalanmış halde miyofibriller (yıldız), şişmiş ve iç yapısı bozulmuş mitokondriyonlar (ok), genişlemiş SER sisternaları (ok başı), apoptotik görünümlü nükleus (N).

$1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid uygulanan kas hücrelerinde ise, sarkomer yapıları korunmuş görünmekle birlikte miyofilamanlar ve oluşturdukları miyofibrillerde dalgalı ve düzensiz görünümde alanlar mevcuttur. Çizgili kas dokunun bazı SER sisternalarında hafif genişleme bulguları gözlemlendi. Dokunun mitokondriyonlarında ise, belirgin bir dejenerasyon bulgusu tespit edilmedi (Şekil 4).



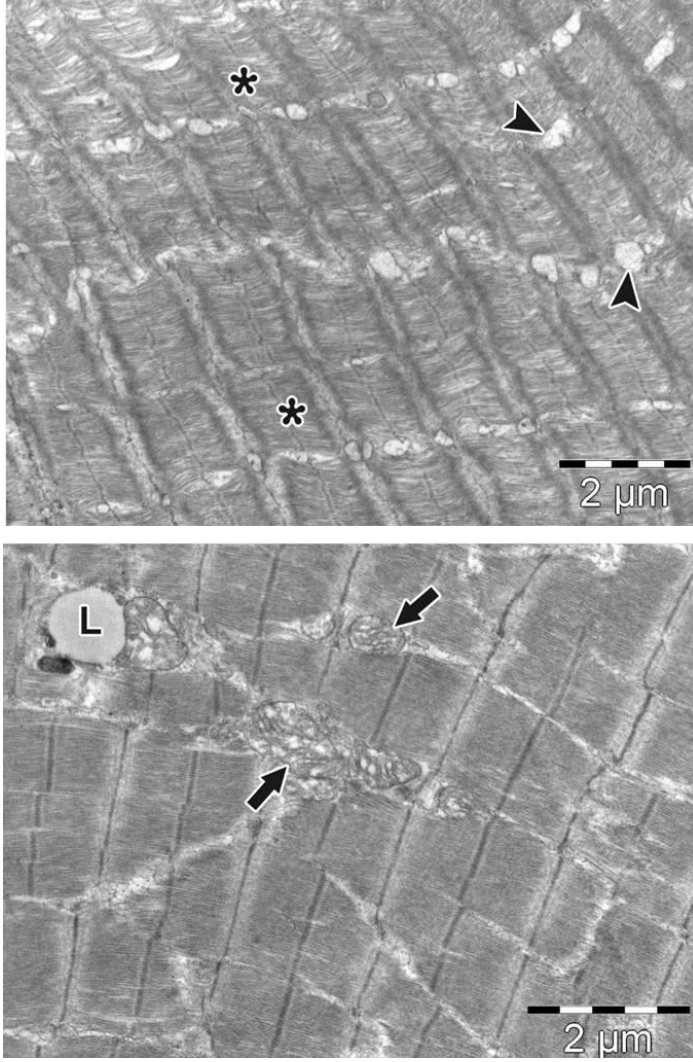
**Şekil 4.**  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid. Düzensiz görünümlü miyofibriller (yıldız), genişlemiş SER sisternaları (ok başı) ve normal görünümlü mitokondrion (ok).

$1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid uygulanan gastrokinemius kasında dejenerasyon bulgusu saptanmamıştır. Kas dokunun sarkomer yapıları, miyofilamanlar ve miyofibriller iyi korunmuş olarak değerlendirildi. Mitokondrionların görünümü normaldir. Bulgu olarak kabul edilebilecek ve thiacloprid'in çizgili kas dokusu üzerinde meydana getirdiği tek değişiklik, mitokondrionların arasında az sayıda gözlenen lipid damlacıklarıdır (Şekil 5).



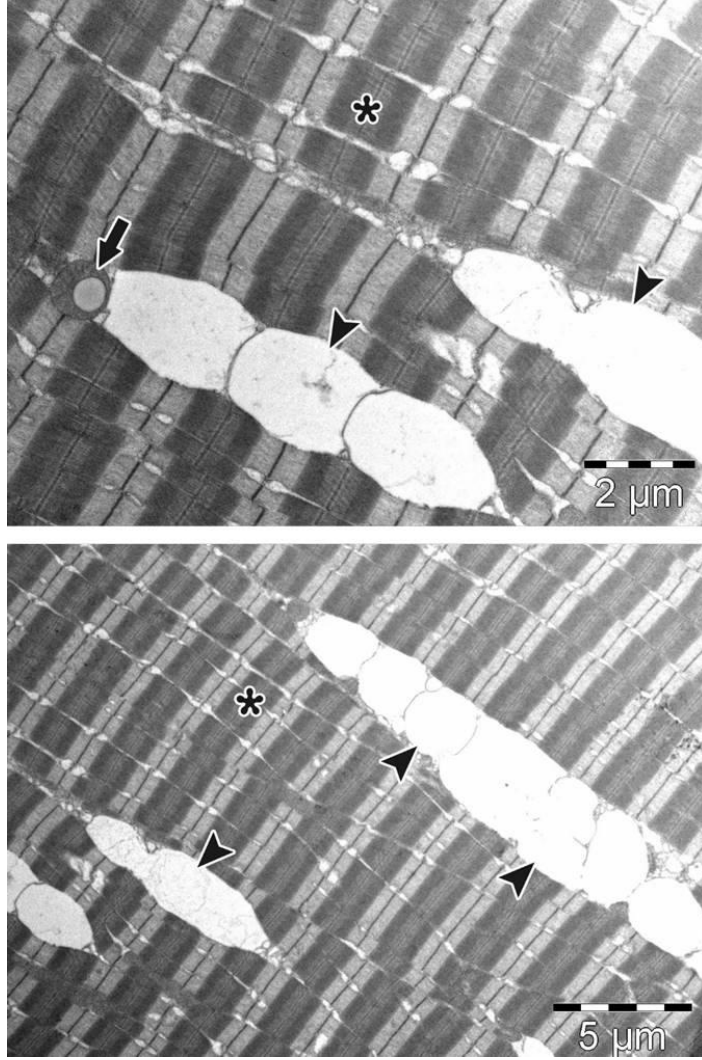
Şekil 5.  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid. Normal görünümlü miyofibriller (yıldız), mitokondriyonlar (ok), nükleus (N) ve lipid damlacıkları (L).

$1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin karışımı uygulanan kas hücrelerinde hafif dejenerasyon bulguları gözlemlendi. Kas dokuda, bazı mitokondriyonların yanında yerleşmiş az sayıda lipid damlacıkları görülürken, bazı alanlarda miyofilamanların birbirinden hafifçe ayrıldığı ve dalgalı bir görünüm kazandığı da belirlendi (Şekil 6).



**Şekil 6.**  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid +  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin. Ayrılmış ve dalgalı görünümde miyofilamanlara sahip miyofibriller (yıldız), SER sisternaları (ok başı), mitokondriyon (ok) ve lipid damlacığı (L).

$1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin karışımı uygulanan grupta da hafif sayılabilecek düzeyde dejenerasyon bulguları tespit edildi. Kas dokunun bazı alanlarında, SER genişlemelerine bağlı geniş vakuoller gözlenirken sarkomer yapılarının, miyofibriller ve miyofilamanların normal düzende olduğu saptandı (Şekil 7).



**Şekil 7.**  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid +  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin. Genişlemiş SER sisternaları (ok başı), normal görünümlü miyofibriller (yıldız) ve mitokondriyon (ok).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamızda thiacloprid ve thiacloprid ile d-tubokurarin kombinasyonuna maruz bırakılan kurbağa gastrokinemius kaslarında meydana gelebilecek olası dejenerasyon, histopatolojik olarak ince yapı düzeyinde değerlendirilmiştir. Elektron mikroskobik incelemeler sonucunda,  $1 \times 10^{-3}$  M ve  $1 \times 10^{-4}$  M gibi yüksek dozlardaki thiacloprid'in gastrokinemius kasında ağır dejenerasyon meydana getirdiği gözlenmiştir (Şekil 2 ve 3). Bu dozlardaki insektisit, kas hücrelerinin sarkomer bütünlüğünün bozulmasına, miyofibrillerin ayrılmasına ve düzensiz bir görünüme sahip olmasına neden olmuştur (Şekil 2 ve 3). Daha düşük doz olan  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid, kas dokusunda hafif dejenerasyon meydana getirmiştir.  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid kas miyofilamanları ve oluşturdukları miyofibrillerde dalgalı ve düzensiz görünüme, dokunun bazı SER

sisternalarında hafif genişlemeye neden olmuştur (Şekil 4). Uygulanan en düşük doz olan  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid'in kas dokusunda dejenerasyon meydana getirmediği görülmüştür (Şekil 5).  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin karışımı (Şekil 6) ve  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin karışımı ise, kas dokusu üzerinde hafif düzeyde dejenerasyon meydana getirmiştir (Şekil 7).

Thiacloprid'in 28 gün boyunca *Gallus domesticus*'a oral yolla 10 mg/kg/gün verildikten sonra karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, bağırsak, beyin ve ovaryum üzerine etkilerinin histopatolojik olarak incelendiği çalışmaya göre, karaciğerde hepatosit dejenerasyonu ve kanın durgunlaşması (konjesyon), böbrek tübüllerinde dejenerasyon ve epitel hücre dökülmeleri (deskuamasyon), akciğerlerde konjesyon ve hemoraji, beyinde dejenerasyon nöronların etrafında glia hücreleri (satellatosis), kalpte miyokardial hemoraji meydana geldiği, ovaryumda ise herhangi bir etki görülmediği gözlemlenmiştir (Goyal vd., 2010). Nikotin ve nikotin antagonisti olan mecamlamin'in *Rana ridibunda* gastrokinemius kası kasılma kuvveti üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmaya göre,  $1 \times 10^{-4}$  M nikotin ve yine aynı dozdaki mecamlamin, uygulamanın 120. dakikasında kasılma kuvvetini kontrol grubuna göre sırasıyla %48 ve %81 oranında azalttığı ve nikotinin iskelet kası kasılma kuvveti üzerine inhibisyon meydana getirdiği gözlenmiştir (Kumargal vd., 2008). İmidacloprid, acetamiprid, nitenpyram, clothianidin ve thiacloprid olmak üzere 5 neonikotinoid insektisit 3,05, 2,69, 4,34, 0,93, 2,68 mg/kg dozlarında *Eisenia fetida* üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaya göre sırasıyla, %84,0, %39,5, %54,3, %45,7, %39,5 oranlarında üremenin azaldığı, selulaz aktivitesinin inhibe olduğu, 14 günlük uygulamadan sonra ise, epidermal ve orta bağırsak dokunun parçalandığı gözlenmiştir (Wang vd., 2015).

Organofosforlu insektisitlerden monocrotophos'un günde 0,45, 0,9 ve 1,8 mg/kg olmak üzere, Wistar sıçanlara oral yolla verilen çalışmada, bağırsak mikrovilluslarındaki kolesterol ve fosfolipid oranının azaldığı, intestinal disakkaridaz, alkalın fosfataz, glisilglisin dipeptidaz ve Na/K-ATPaz aktivitesinin ise arttığı gözlenmiştir. Taramalı elektron mikroskopunun kullanıldığı çalışmaya göre, ince bağırsak mikrovilluslarının uzadığı, goblet hücrelerinde hiperplazi görüldüğü, inflamatuvar hücrelerde infiltrasyon ve nekrotik tip hücre varlığı gibi histopatolojik sonuçlar elde edilmiştir (Rajini, 2014). Bitkisel kökenli bir insektisit olan azadirachtin'in 5, 10 ve 15 µg/g dozlarında, erişkin *Schistocerca gregaria* ve *Locusta migratoria*'ya enjeksiyonundan sonra, orta bağırsak hücreleri üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, orta bağırsak hücrelerinde dejenerasyon, dağılıma, organellerde büyüme, epidermal tabaka altındaki bağ dokusunda büyüme, çok sayıda istilacı hücre, halkasal ve uzunlamasına kaslarda şişme ve yuvarlaklaşma gözlenmiştir (Nasiruddin ve Mordue, 1993). *Danio rerio*'nun çeşitli sıcaklıklarda 1, 5, 10, 15, 20 mg/L thiacloprid ve 100, 500, 1000, 2000, 3000 µg/L diazinon'a maruz bırakıldıktan sonra, bu balıkta yumurta kesesi anomalisi, kalpte ödem, göz defektleri, zayıf pigmentasyon, denge bozukluğu, omurga ve kuyruk deformasyonları gözlenmiştir (Osterauer ve Köhler, 2008). İmidacloprid'in, 10 ve 20 mg/kg dozlarında dişi albino sıçanlara, oral yolla 60 gün boyunca uygulandıktan sonra, bu insektisite bağlı olarak kalp ve dalakta küçülme, plazma ve beyinde asetilkolinesteraz aktivitesinde azalma, karaciğerde hepatosit dejenerasyonu, karaciğer sentral veninde genişleme ve konjesyon gibi patolojik değişiklikler gözlenmiştir (Vohra vd., 2014).

Bu sonuçlara göre, neonikotinoid bir insektisit olan thiacloprid'in yüksek dozlarının *P. ridibundus* gastrokinemius kasında yüksek düzeyde dejenerasyon meydana getirdiği,



insektisitinin düşük dozlarının ise, kas dokuda hafif dejenerasyon meydana getirdiği ya da dejenerasyon meydana getirmediği anlaşıldı. Elektron mikroskobu incelemesinde, thiacloprid ile bir neonikotinoid antagonisti olan d-tubokurarin'in karışım olarak uygulandığı kas dokuda ise hafif dejenerasyon bulguları gözlemlendi. Kas hücrelerinin yapısında meydana gelen bu dejenerasyon, iskelet kası kasılma kuvveti ve mekanik aktivite kapasitesini de etkileyebileceği kanısına varıldı.

Bu sonuçlar, tarım ve hayvancılıkta ürün zararlılarına karşı ülkemizde yaygın olarak kullanılan insektisitlerin, hedef olmayan organizmalar üzerine de etkili olabileceğine işaret etmektedir. Çevre ve insan sağlığı bakımından insektisitlerin bilinçli, amaca yönelik ve ölçülü kullanılmasının büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Feng, S., Kong, Z., Wang, X., Zhao, L., Peng, P. 2004. Acute Toxicity and Genotoxicity of Two Novel Pesticides on Amphibian Rana N. Hallowell, Chemosphere, 56,457-463.
- Goyal, S., Sandhu, H. S., Brar, R. S. 2010. Histopathological Alterations Induced after Oral Sub-Acute Thiacloprid Toxicity in *Gallus domesticus*. Veterinarski Arhiv., 80(5),673-682.
- Güner, U. 2014. Toksikoloji. Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi, 2. Versiyon, Edirne, s:186-189.
- Hayat, M.A. 2000. Principles and Techniques of Electron Microscopy Biological Applications. Cambridge University Press, 4th Edition, Cambridge, United Kingdom, pp.543.
- Kagabu, S. 1997. Chloronicotiny Insecticides-Discovery, Application and Future Perspective. Rev. Toxicol., 1, 75-129.
- Kagabu, S., Akagi, T. 1997. Quantum Chemical Consideration of Photostability of Imidacloprid and Related Compounds. J. Pestic. Sci., 22(2), 84-89.
- Kagabu, S., Medej, S. 1995. Stability Comparison of Imidacloprid and Related Compounds Under Stimulated Sunlight, Hydrolysis Conditions and to Oxygen. Biosci. Biotechnol. Biochem., 59(6), 980-985.
- Kumargal, D., Çömelekoğlu, Ü., Aşkın, A. 2008. Nikotin ve Antagonisti Mecamylaminin Kurbağa (*Rana ridibunda*) İskelet Kası Üzerine Etkileri. Mersin Univ. Sağlık Bilim. Derg., 1(3),14-20.
- Lu, F.C. 1996. Basic Toxicology. Taylor and Francis Press, Washington, pp.358.
- MacMahon, B. 1994. Pesticide Residues and Breast Cancer. J. Natl. Cancer Inst., 86, 572-573.
- Mullins, J. W. 1993. Imidacloprid: A New Nitroguanidine Insecticide. Am. Chem. Soc. Symp. Ser., 524, 183-198.
- Nasiruddin, M., Mordue, A.J. 1993. The Effect of Azadirachtin on the Midgut Histology of the Locusts, *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. Tissue and Cell., 25(6), 875-884.
- Nauen, R. 1995. Behaviour Modifying Effects of Low Systemic Concentrations of Imidacloprid on Myzus Persicae with Special Reference to an Antifeeding Response. Pestic. Sci., 44(2), 145-153.
- Osterauer, R., Köhler, H.R. 2008. Temperature-Dependent Effects of the Pesticides Thiacloprid and Diazinon on the Embryonic Development of Zebrafish (*Danio rerio*). Aquat. Toxicol., 86, 485-494.
- Pimentel, D., Greiner, A., Bashore, T. 1998. Economic and Environmental Costs of Pesticide Use, J. Rose (ed), Environmental Toxicology: Current Developments, Gordon and Breach Science Publisher, UK, p.121-187.
- Pollet, I., Bendell-Young, L., I. 2000. Amphibians as Indicators of Wetland Quality. Environ. Toxicol. Chem., 19, 2589-2597.
- Rajini, V. P. S. 2014. Oral Exposure to the Organophosphorus Insecticide, Monocrotophos Induces Intestinal Dysfunction in Rats. Food Chem. Toxicol., 71, 236-243.

- Stenersen, J. 2004. Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology. CRC Press, Florida, p. 276.
- Tomizawa, M., Casida, J. E. 2003. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 339-64.
- Tomizawa, W., Yamamoto, I. 1993. Structure-Activity Relationships of Nicotinoids and Imidacloprid Analogs. *J. Pestic. Sci.*, 18(1), 91-98.
- Toros, S., Maden, S., Sözeri, S. 1999. Tarımsal Savaş Yöntem ve İlaçları. Ankara, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, s: 27-42.
- Vohra, P., Khera, K.S., Sangha G.K. 2014. Physiological, Biochemical and Histological Alterations Induced by Administration of Imidacloprid in Female Albino Rats, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 110, 50-56.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s: 334-377.
- Wang, K., Pang, S., Mu, X., Qi, S., Li, D., Cui, F., Wang, C. 2015. Biological Response of Earthworm, *Eisenia fetida*, to Five Neonicotinoid Insecticides. *Chemosphere*, 132:120-126.
- Ware, G. W., Whitacre, D. M. 2004. An Introduction to Insecticides. *The Pesticide Book*, 6th Ed. pp: 1341.
- Zwart, R., Oortgiesen, M., Vijverberg, H. P. 1992. The Nitromethylene Heterocycle 1-(pyridin-3-yl-methyl)-2-Nitromethylene-Imidazolidine Distinguishes Mammalian from Insect Nicotinic Reseptor Subtypes. *Eur. J. Phar.*, 228(2-3), 165-169.
- Zwart, R., Oortgiesen, M., Vijverberg, H. P. 1994. Nitromethylene Heterocycles: Selective Agonists of Nicotinic Receptors in Locust Neurons Compared to Mouse N1E-115 and BC3H1 cells, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 48, 202-213.

## Thiacloprid ve D-Tubokurarin'in *Rana ridibunda* Gastrokinemius Kası Üzerine Toksik Etkileri III: Oksidatif Potansiyel\*

Yusuf ÇAMLICA<sup>1\*\*</sup>, Esra PEKOĞLU<sup>1</sup>, Serap YALIN<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Mersin

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin

Geliş : 12.05.2016

Kabul : 09.08.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*\*Sorumlu Yazar: ycamlica@yahoo.com

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Bu çalışmada neonicotinoid bir insektisit olan thiacloprid ve antagonisti d-tubokurarin'in kurbağa gastrokinemius kasında, tiyobarbitürik asit reaktif madde düzeyleri ve katalaz enzim aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Deneylerde 35 adet kurbağa kas preparatı kullanılmıştır. Gastrokinemius kası izole edildikten sonra, 120 dakika boyunca 250, 25, 2,5 ve 0,25 mg/L olmak üzere thiacloprid'in 4 farklı konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Ayrıca, izole kaslar 2,5 mg/L thiacloprid ile 80 mg/L d-tubokurarin karışımı ve 0,25 mg/L thiacloprid ile 8 mg/L d-tubokurarin karışımı ile muamele edilmiştir. Kontrol grubundaki kas dokuları ise, 120 dakika boyunca Ringer çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Her bir konsantrasyon grubu eşit sayıda preparat ile çalışılmıştır (n=5).Yapılan incelemeler sonucunda 250, 25, 2,5 ve 0,25 mg/L thiacloprid, 0,25 mg/L thiacloprid ile 8 mg/L d-tubokurarin karışımının çizgili kas dokusunda kontrol grubuna göre, tiyobarbitürik asit reaktif madde düzeylerini arttırdığı gözlenmiştir (P<0,05). 250 (P<0,001) ve 25 mg/L thiacloprid (P<0,05), kas dokuda katalaz enzim aktivitesini azaltmıştır. Bu çalışma, thiacloprid ve d-tubokurarin'in çizgili kaslarda oksidatif stres oluşturma potansiyelinin, hedef olmayan organizmalara olası etkilerinin ve çevresel risklerinin değerlendirilmesinde önemli bilgiler sunmaktadır.

*Anahtar kelimeler:* Thiacloprid, d-tubokurarin, kurbağa, gastrokinemius, oksidatif stres.

### Toxic Effects of Thiacloprid and D-Tubocurarine on *Rana ridibunda* Gastrocnemius Muscle III: Oxidative Potential

#### Abstract

In this study, the effects of neonicotinoid insecticide thiacloprid and its antagonist d-tubocurarine on the amount of thiobarbituric acid reactive substances and their effects on catalase enzyme activity was investigated in frog gastrocnemius muscle. In the experiments 35 frog muscle preparations were used. The isolated gastrocnemius muscle was subjected to four different concentrations of thiacloprid (250, 25, 2.5 ve 0.25 mg L<sup>-1</sup>) for 120 minutes. The muscles were also treated with a 2.5 mg L<sup>-1</sup> thiacloprid and 80 mg/L d-tubocurarine mixture, with 0.25 mg L<sup>-1</sup> thiacloprid and 8 mg L<sup>-1</sup> d-tubocurarine mixture. The muscle tissues in the control group were maintained in Ringer's solution for 120 minutes. Each concentration group was studied with an equal number of preparations (n=5). Based on the research results, it was determined that 250, 25, 2.5 ve 0.25 mg L<sup>-1</sup> thiacloprid and the mixture of 0.25 mg L<sup>-1</sup> thiacloprid and 8 mg L<sup>-1</sup> d-tubocurarine decreased the amount of thiobarbituric acid reactive substances of the striated muscle tissue compared to the control group (P<0.05). 250 (P<0.001) and 25 mg L<sup>-1</sup> thiacloprid (P<0.05) decreased the catalase enzyme activity in muscle tissue. This study provides important data for the potential of thiacloprid and d-tubocurarine creating oxidative stress in skeletal muscle, for assessing the possible effects on non-target organisms and for assessing their environmental risks.

*Keywords:* Thiacloprid, d-tubocurarine, frog, gastrocnemius, oxidative stress.

**\*Bu çalışma, yüksek lisans tezinden özetlenmiştir.**

## GİRİŞ

Neonikotinoidler, insektisitlerin son 30 yılda geliştirilen en yeni sınıfı olup homopterler, hemipterler ve siphonapterler gibi tarım zararlılarına ve evcil hayvanların dış parazitlerine karşı mücadelede önem kazanarak (Tomizawa ve Casida, 2005) organofosforlu, organoklorlu ve piretroid bileşiklerin yerini almaya başlamıştır (Kocaman ve Topaktaş, 2007).

Thiacloprid [3-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-1,3-thiazolidin-2-ylidenecyanamide], neonikotinoid bileşikler sınıfına ait yeni bir pestisitdir. Işığa dayanıklılığının iyi olması (Mullins, 1993) ve omurgalılara göre böcekler üzerine yüksek seçici toksisite göstermesi, bu insektisit dnyaya çapında yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Nauen, 1995).

Omurgalı hayvanların farklı pestisit grubuna maruz kalmaları sonucu, in vivo koşullarda reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) artmaktadır (Klaunig, 1991). Bunlar oksijenin kısmi redüklenmesi ile oluşan hidrojen peroksit, süperoksit anyonlar, hidroksil radikalleri ve nitrik oksit gibi reaktif araçlardır. RNS ve ROS'lar, DNA, protein ve hücre membranı gibi biyolojik sistemlerle reaksiyona girerken, bunun sonucu olarak bu sistemlerde hasar meydana getirirler (Scassellati vd., 1994). Ancak oluşan radikaller, vücudun kendisinde bulunan antioksidan enzimler tarafından detoksifiye edilirler. Birçok organizmada antioksidan sistem temel olarak katalaz (CAT; EC 1.11.1.6), superoksit dismutaz (SOD; EC 1.15.1.1), glutatyon peroksidaz (GPx; EC 1.11.1.9), glutatyon redüktaz (GR; EC 1.8.1.7), glutatyon S-transferaz (GST; EC 2.5.1.18) enzim sistemlerini içerirler (El-Gendy vd., 2010). Bu enzimlerin aktivitesindeki değişimler, oksidatif stres ile ilgili redoks değişikliklerine işaret eden bozuklukları göstermektedirler (Moraes vd., 2009). Reaktif oksijen radikallerini yok edici özelliğe sahip SOD, CAT, GPx gibi enzimlerin pestisitlerden kaynaklanan serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hücrenel sistemi koruyabildikleri saptanmıştır (Banerjee vd., 1999). Ancak bu antioksidan sistem muhtemelen ROS ve RNS'lerin aşırı üretimini olduğu patolojik durumlarda yetersiz kalabilir ve bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır (Aruoma, 1998). Pestisitler oksidatif stresi arttırarak serbest radikal üretimine ve lipid peroksidasyonuna (LPO) yol açmaktadırlar. Yapılan çalışmalarda pestisitlerin tavuk ve farelerde hepatik LPO'yu indüklediği, serbest radikal oluşturması ile oksidatif stres meydana getirdiği bildirilmiştir (John vd., 2001). Pestisitler ve metaller gibi evre kirleticileri, ROS oluşumunu uyarabilir (Keramati vd., 2010). ROS oluşumunun oksidatif strese yol atığı, bu oksidatif stresin serbest radikal üretimi ile antioksidan aktivite arasında dengesizlik meydana getirdiği ve bu durumun hücrenel hasarlara yol atığı bildirilmiştir (Yu vd., 2008). Aynı araştırmacılar ROS'un hücrede artışının LPO'yu yükselttiğini saptamışlardır.

Yapılan bir çalışmada, thiacloprid'in akut ve subakut etkisinde sıçan dalak, kemik iliği ve timus dokularında lipid peroksidasyonu artarken glutatyon (GSH) miktarı, CAT ve GPx aktivitelerinin azaldığı görülmüştür. SOD aktivitesinin dalak ve kemik iliğinde arttığı, GST aktivitesinin ise, sadece timus dokusunda azaldığı belirlenmiştir. Böbrek hasarı ile ilişkili olarak, serum üre ve kreatinin düzeylerinin arttığı ve antioksidan savunmanın bu pestisit metabolizması sırasında üretilen oksidatif moleküller nedeniyle zayıflamış olabileceği bildirilmiştir (Aydın, 2011). 15 gün süreyle oral yolla 5, 6 ve 18 mg/kg dozlarında piretroid insektisitlerden deltametrin verilmiş farelerin, karaciğer ve böbreklerinde LPO'nun uyarıldığı, GPx ve CAT aktivitelerinin baskılandığı, GSH düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir (Rehman vd., 2006).

Thiacloprid yeni üretilen bir insektisitir. Bu nedenle, hedef olmayan organizmalar üzerine toksik etkisi konusundaki çalışmalar yetersizdir. Bu çalışmanın amacı, günümüzde yaygın olarak kullanılan bir insektisit olan thiacloprid ve antagonisti d-tubokurarin'in kurbağa gastrokinemius kasında oksidatif strese neden olup olmadığını belirlemesidir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

### Kimyasallar

Deneylerde kimyasal olarak, potasyum dihidrojen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), disodyum hidrojen fosfat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), sodyum dodesil sülfat (SDS), asetik asit, tiyobarbitürik asit (TBA), tetrametoksipropan, 1-butanol, piridin, thiacloprid ( $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{ClN}_4\text{S}$ ; Calypso OD 240, Bayer), d-tubokurarin ( $\text{C}_{37}\text{H}_{42}\text{Cl}_2\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; T2379, Sigma) kullanılmıştır. Kas dokusuna uygulanan thiacloprid ve d-tubokurarin, soğukkanlı canlıların dokularının devamlılığını sürdürmesi için gerekli olan Ringer çözeltisi içerisinde hazırlanmıştır.

### Deney Hayvanlarının Sağlanması

Deneylerde, ağırlıkları 50-60 g arasında değişen 35 adet *Rana ridibunda* türünden kurbağa kullanılmıştır. Spinal hale getirilen kurbağaların vertebral kolonuna, ince bir tel ile girilerek *Medulla spinalis* tahrip edilmiş ve gastrokinemius kasları izole edilmiştir. Gastrokinemius kasları 250, 25, 2,5 ve 0,25 mg/L konsantrasyonlarda thiacloprid, 2,5 mg/L thiacloprid ile 80 mg/L d-tubokurarin, 0,25 mg/L thiacloprid ile 8 mg/L d-tubokurarin kombinasyonu ve kontrol grubu olmak üzere her grupta 5 kas doku olacak şekilde 7 gruba ayrılmıştır. Bu çalışmada kullanılan deney hayvanları için, Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 27.03.2014 tarih ve 2014/9 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır.

### Biyokimyasal Analizler

İzole edilen gastrokinemius kasları, 120 dakika boyunca 250, 25, 2,5 ve 0,25 mg/L thiacloprid çözeltilerinde, 2,5 mg/L thiacloprid ile 80 mg/L d-tubokurarin karışımında ve 0,25 mg/L thiacloprid ile 8 mg/L d-tubokurarin karışımında ayrı ayrı bekletilmiştir. Kontrol grubundaki kas dokuları ise, 120 dakika süresince Ringer çözeltisinde bekletilmiştir. Tüm deney gruplarında agonist ve antagonistin etkileri eşit sayıda denek üzerinde çalışılmıştır (n=5). 120 dakika boyunca farklı derişimlerde thiacloprid ve thiacloprid ile d-tubokurarin karışımına maruz bırakılan kas preparatları ile sadece Ringer çözeltisinde bekletilen kas dokuları Eppendorf tüplerine alınarak analizler yapılana kadar  $-20^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanan bir derin dondurucuda saklanmıştır.

CAT aktivitesi tayini Aebi, (1984) tarafından tarif edilen yöntemle yapılmıştır. Yöntem,  $\text{H}_2\text{O}_2$  substratının katalaz ile enzimatik yıkımının 240 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır. Spesifik aktivite, ünite (U)/g protein cinsinden hesaplanmıştır.

Tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) ölçümü, LPO ürünlerinden en stabili olan malondialdehitin (MDA), TBA ile arasındaki reaksiyon sonucu oluşan pembe kırmızı renkli çözeltinin absorbansının spektrofotometrik olarak değerlendirilmesi esasına dayanmaktadır (Ohkawa vd., 1979). TBARS düzeyleri, nmol/g protein olarak ifade edilmiştir.

Protein ölçümü Lowry metoduna göre standard olarak bovin serum albumin kullanılarak yapılmıştır (Lowry vd., 1961). Bu yöntemde alkali çözeltide bakır-protein kompleksi oluşmaktadır. Bu kompleks fosfomolibdatfosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteus-Phenol Reaktifi) redüklemekte ve koyu mavi bir renk oluşmaktadır. Rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

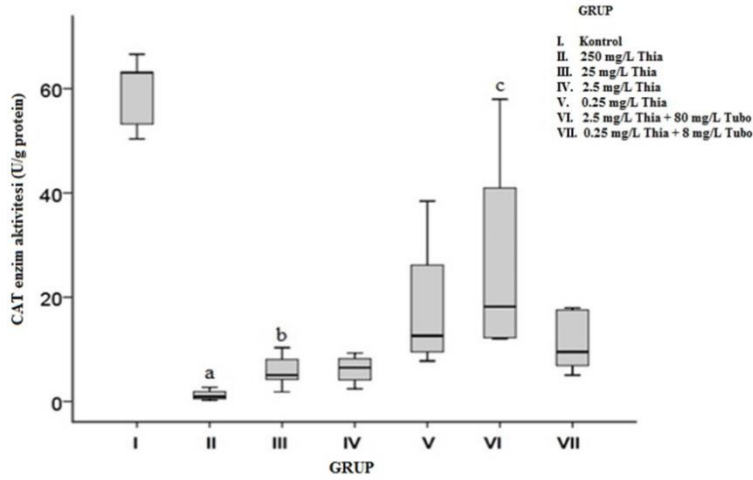
### **İstatistiksel Analiz**

Veriler, SPSS 21 ve Statistica 8.0 paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda ikiden fazla bağımsız grup bulunduğu için, normal dağılım gösteren verilerde gruplar arası farklılık olup olmadığı Varyans Analizi (One Way ANOVA) ile test edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen verilerde ise, gruplar arasında farklılık olup olmadığı Kruskal-Wallis testi kullanılarak saptanmıştır (Katalaz aktivitesi normal dağılım göstermemiştir, TBARS ise normal dağılım göstermiştir). Grup karşılaştırmaları ise, Bonferroni ve Dunn testleri uygulanarak yapılmıştır. İstatistiksel anlamlı farklılık olarak  $P<0,05$  ve  $P<0,001$  alınmıştır (Rosner, 1995).

## **BULGULAR**

### **Thiacloprid ve D-Tubokurarin'in CAT Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri**

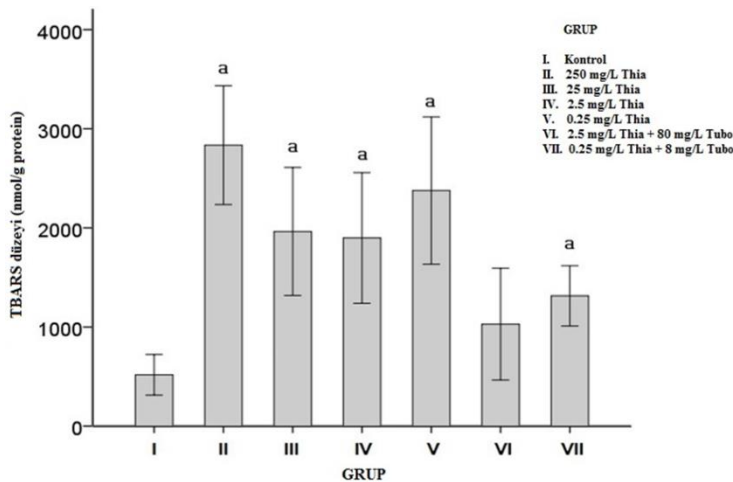
Thiacloprid ve d-tubokurarin'in CAT enzim aktivitesi üzerine etkileri Şekil 1'de gösterilmiştir. Thiacloprid'in uygulandığı bütün gruplarda, kontrol grubuna göre, konsantrasyona bağlı olarak CAT enzim aktivitesinde azalma meydana gelmiştir. Özellikle yüksek konsantrasyon grupları olan 250 ( $P<0,001$ ) ve 25 mg/L ( $P<0,05$ ) thiacloprid gruplarında CAT aktivitesinin, kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Konsantrasyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, 2,5 mg/L thiacloprid ile 80 mg/L d-tubokurarin karışımının uygulandığı grup, 250 mg/L thiacloprid grubuna göre CAT aktivitesini önemli biçimde arttırdığı gözlenmiştir ( $P<0,05$ ). Diğer konsantrasyon grupları arasındaki farklılıklar ise anlamlı değildir. Bununla beraber düşük konsantrasyon grupları olan 2,5, 0,25 mg/L thiacloprid ve 0,25 mg/L thiacloprid ile 8 mg/L d-tubokurarin karışımı kastaki CAT aktivitesini kontrol grubuna göre azaltmakla birlikte, bu azalmaların istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir.



**Şekil 1.** Thiacloprid ve d-tubokurarin'in CAT enzim aktivitesi üzerine etkileri. a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ( $P<0,001$ ). b: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ( $P<0,05$ ).c: 250 mg/L thiacloprid grubu ile karşılaştırıldığında ( $P<0,05$ ).

### Thiacloprid ve D-Tubokurarin'in TBARS Düzeyi Üzerine Etkileri

Thiacloprid ve d-tubokurarin'in TBARS düzeyleri üzerine etkileri Şekil 2'de verilmiştir. 250, 25, 2,5 ve 0,25 mg/L thiacloprid konsantrasyona bağlı olarak, gastrokinemius kasında TBARS düzeyini kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttırmıştır ( $P<0,05$ ). Bunun yanı sıra 0,25 mg/L thiacloprid ile 8 mg/L d-tubokurarin karışımının da, kas TBARS düzeyini kontrol grubuna göre önemli biçimde arttırdığı tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). 2,5 mg/L thiacloprid ile 80 mg/L d-tubokurarin karışımının, kas TBARS düzeyinde kontrol grubuna göre meydana getirdiği artış ise önemli değildir. Öte yandan, konsantrasyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman, gastrokinemius kası TBARS düzeyleri arasındaki farklılıkların anlamlı olmadığı gözlenmiştir.



**Şekil 2.** Thiacloprid ve d-tubokurarin'in TBARS düzeyi üzerine etkileri. a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ( $P<0,05$ ).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, thiacloprid ve thiacloprid ile d-tubokurarin kombinasyonuna maruz bırakılan kurbağa gastrokinemius kaslarında meydana gelebilecek oksidatif hasar biyokimyasal yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda, 250 ve 25 mg/L gibi yüksek konsantrasyonlarda uygulanan thiacloprid'in CAT aktivitesini kontrol grubuna göre önemli biçimde azalttığı gözlenmiştir. Konsantrasyon grupları kendi aralarında karşılaştırıldığı zaman ise, 2,5 mg/L thiacloprid ile 80 mg/L d-tubokurarin karışımı, 250 mg/L thiacloprid uygulanan gruba göre, CAT aktivitesini önemli biçimde arttırmıştır ( $P<0,05$ ). Ayrıca, antagonist etkiye sahip olan ve 2,5 mg/L thiacloprid ile birlikte uygulanan 80 mg/L konsantrasyonundaki d-tubokurarin'in, 2,5 mg/L dozundaki thiacloprid'in CAT aktivitesi üzerindeki baskılayıcı etkisini kısmen de olsa düzelttiği gözlenmiştir (Şekil 1). Bunun yanı sıra, thiacloprid'in konsantrasyona bağlı olarak TBARS düzeylerinde artışa neden olduğu, 2,5 mg/L thiacloprid ile birlikte uygulanan 80 mg/L konsantrasyonundaki d-tubokurarin'in, 2,5 mg/L konsantrasyonundaki thiacloprid'in TBARS düzeyi üzerindeki etkisini kısmen de olsa azalttığı görülmüştür (Şekil 2).

Yapılan bir çalışmada, erkek Sprague Dawley sıçan kasında organofosfatlı diizopropil fluorofosfatın (DFP) indüklediği in vivo ROS ve ardışık lipid peroksidasyonu artışının, nikotik asetilkolin reseptörü (nAChR) antagonisti d-tubokurarin ile önlendiği belirlenmiştir (Yang ve Dettbarn, 1996). Serbest radikaller pestisit toksisitesinde önemli bir rol oynamaktadır (Düzgüner ve Erdoğan, 2012). İnsektisitler, serbest radikal oluşumuna yol açarak oksidatif stresi indüklemektedir (Düzgüner ve Erdoğan, 2010). Deney hayvanlarıyla yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, antioksidan savunma mekanizmalarıyla ilişkili enzimlerin aktivitesinin, pestisitlerin etkisi altında değiştiğini göstermiştir (Thapar vd., 2002; Singh vd., 2006). Ayrıca oksidatif stres ve DNA hasarının, kanser ve nörolojik hastalıklarda pestisit maruziyetine bağlı olarak arttığını gösteren mekanizmalar olduğu ileri sürülmektedir. İnsektisitlerin metabolizması boyunca, NO gibi reaktif nitrojen türleri ve reaktif oksijen türleri oluşabilmektedir (Grisham vd., 1999).

Neonikotinoid maruziyeti, LPO'yu artırabilir. Artan LPO sonucu membranın işlevi değişir, reaktif ve toksik aldehitler, özellikle de MDA oluşur (Cheeseman, 1993). Pestisitlerin oluşturduğu serbest oksijen radikalleri, LPO ve birçok oksidatif mekanizmayı başlatarak doku hasarına neden olmaktadır (Kanbur vd., 2008). Antioksidan enzim düzeylerindeki azalma, maruziyetten sonra pestisitlerin metabolizması sırasında oluşan oksidatif moleküllere bağlanarak aktivitelerinin indirekt olarak inhibe olması şeklinde yorumlanır (Düzgüner ve Erdoğan, 2012). Özkol vd. (2011), organofosforlu bir insektisit olan omethoat'ın *Rana ridibunda*'nın dil, akciğer, mide ve kas dokularında MDA miktarı ve CAT aktivitesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmanın sonucunda, 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca, 10 ve 20 mg/L konsantrasyonlarda uygulanan omethoat'ın akciğer ve mide dokularında MDA miktarını önemli ölçüde artırdığı, CAT aktivitesinde ise akciğer dokusunda artışa neden olurken dil dokusunda azalma meydana getirdiği gözlenmiştir. 7 ve 30 gün boyunca 50 µg/L karbofuran'a maruz bırakılan *Cyprinus carpio*'nun beyin, karaciğer ve kas dokuları üzerine oksidatif stres parametrelerinin incelendiği çalışmada, beyinde 7 ve 30 gün sonra TBARS düzeylerinin arttığı, uygulamadan 30 gün sonra ise karaciğerde CAT aktivitesinin azaldığı görülmüştür (Clasen vd., 2014). 30 gün boyunca, 1,28 mg/kg dozda uygulanan deltametrin'in Wistar albino sıçanlar üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, siyatik sinir dokusunda CAT ve



SOD aktivitesinin azaldığı, MDA düzeyinin ise arttığı sonucuna ulaşılmıştır (Ballı vd., 2014).

Çalışmamızda, thiacloprid'e maruz bırakılan kurbağa gastrokinemius kasında CAT aktivitesi azalmış, TBARS düzeyleri ise artmıştır. CAT aktivitesinin azalması, oluşan serbest radikallere antioksidan sistemin yeterli defansı gösteremediğinin göstergesi olarak kabul edilebilir. Ortamdaki bu serbest radikallerin, lipit moleküllerine verdiği zararın en önemli göstergesi yüksek TBARS düzeyidir. Bulgularımızda TBARS miktarının yüksek olması, thiacloprid'in kas dokusunda oksidatif hasara yol açtığını ortaya koymaktadır. Bu çalışma, özellikle tarımsal verimliliği korumak amacıyla kullanılan thiacloprid'in kurbağa gastrokinemius kasında, biyokimyasal parametrelerde değişikliklere neden olabildiğini açıkça göstermektedir. Bu sonuçlar, günümüzde yaygın olarak kullanılan insektisitlerin, hedef olmayan organizmalar üzerine, çevresel toksik etkilerinin moleküler mekanizmasının anlaşılmasına katkı sağlamaktadır.

### Teşekkür

Laboratuvar çalışmalarındaki katkılarından dolayı, Mersin Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Biyokimya A.B.D. Arş. Gör. Metin YILDIRIM'a teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

- Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol, 105,121-126.
- Aruoma, O.I. 1998. Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. Journal of the American Oil Chemists' Society, 75,199-212.
- Aydın, B. 2011. Effects of Thiacloprid, Deltamethrin and Their Combination on Oxidative Stress in Lymphoid Organs, Polymorphonuclear Leukocytes and Plasma of Rats. Pesticide Biochemistry and Physiology, 100,165-171.
- Ballı, E., Yalın, S., Mazmancı, B., Mazmancı, M.A., Söğüt, F., Eroğlu, P., Yetkin, D., Korkutan, S., Çömelekoğlu, Ü. 2014. Deltametrinin Oluşturduğu Periferik Sinir Hasarı Üzerine E Vitaminin Etkisinin Araştırılması. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 7(1), 17-23.
- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pahsa, S.T., Chakraborty, A.K. 1999. Biochemical Effects of Some Pesticides on Lipid Peroxidation and Free-Radical Scavengers. Toxicology Letters, 107, 33-47.
- Cheeseman, K.H. 1993. Mechanisms and Effects of Lipid Peroxidation. Molecular Aspects of Medicine, 14(3), 191-197.
- Clasen, B., Leitemperger, J., Murussi, C., Pretto, A., Menezes, C., Dalabona, F., Marchezan, E., Adaime, M.B., Zanella, R., Loro, V.L. 2014. Carbofuran Promotes Biochemical Changes in Carp Exposed to Rice Field and Laboratory Conditions. Ecotoxicology and Environmental Safety, 101, 77-82.
- Düzgüner, V., Erdoğan, S. 2010. Acute Oxidant and Inflammatory Effects of Imidacloprid on the Mammalian Central Nervous System and Liver in Rats. Pesticide Biochemistry and Physiology, 97(1),13-18.
- Düzgüner, V., Erdoğan, S. 2012. Chronic Exposure to Imidacloprid Induces Inflammation and Oxidative Stress in the Liver and Central Nervous System of Rats. Pesticide Biochemistry and Physiology, 104(1), 58-64.
- El-Gendy, K.S., Aly, N.M., Mahmoud, F.H., Kenawy, A., El-Sebae, A.K. 2010. The Role of Vitamin C as Antioxidant in Protection of Oxidative Stress Induced by Imidacloprid. Food and Chemical Toxicology, 48(1), 215-221.
- Grisham, M.B., Jourdeuil, D., Wink, D.A. 1999. Physiological Chemistry of Nitric Oxide and Its Metabolites: Implications in Inflammation. American Journal of Physiology, 276(2), 315-321.

- John, S., Kale, M., Rathore, N., Bhatnagar, D. 2001. Protective Effect of Vitamin E in Dimethoate and Malathion Induced Oxidative Stress in Rat Erythrocytes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 12, 500-504.
- Kanbur, M., Liman, B.C., Eraslan, G., Altınordu, S. 2008. Effects of Cypermethrin, Propetamphos, and Combination Involving Cypermethrin and Propetamphos on Lipid Peroxidation in Mice. *Environmental Toxicology*, 23(4), 473-479.
- Keramati, V., Jamili, S., Ramin, M. 2010. Effect of Diazinon on Catalase Antioxidant Enzyme Activity in Liver Tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 5, 368-376.
- Klaunig, J.E. 1991. Alterations in Intracellular Communication During the Stage of Promotion. *Experimental Biology and Medicine*, 198(2), 688-692.
- Kocaman, A.Y., Topaktaş, M. 2007. In Vitro Evaluation of the Genotoxicity of Acetamiprid in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48, 483-490.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. 1961. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- Moraes, B.S., Loro, V.L., Pretto, A., Fonseca, M.B., Menezes, C., Marchesan, E., Reimche, G.B., Avila, L.A. 2009. Toxicological and Metabolic Parameters of the Teleost fish (*Leporinus obtusidens*) in Response to Commercial Herbicides Containing Clomazone and Propanil. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95, 57-62.
- Mullins, J.W. 1993. Imidacloprid: A New Nitroguanidine Insecticide. *American Chemical Society Symposium Series*, 524, 183-198.
- Nauen, R. 1995. Behaviour Modifying Effects of Low Systemic Concentrations of Imidacloprid on *Myzus persicae* with Special Reference to An Antifeeding Response. *Pesticide Science*, 44(2), 145-153.
- Ohkava, H., Ohisini, N., Tagi, K. 1979. Assay For Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Chemistry*, 95, 351-358.
- Özkol, H., Tülüce, Y., Çelik, İ., Işık, İ. 2016. Omethoate Modulates Some Oxidant/Antioxidant Parameters in Frogs (*Rana ridibunda* Pallas). *Toxicology and Industrial Health*, 28(4), 320-326.
- Rehman, H., Ali, M., Atıf, F., Kaur, M., Bhatia, K., Raisuddin, S. 2006. The Modulatory Effect of Deltamethrin on Antioxidants in Mice. *Clinica Chimica Acta*, 369, 61-65.
- Rosner, B. 1995. *Fundamentals of Biostatistics*. Fourth ed. Duxbury Press, Boston, pp.299-344.
- Scassellati, S.G., Moretti, M., Villarini, M., Angeli, G., Pasquini, R., Monarca, S., Scarselli, R., Crea, M.G., Lonardis, C. 1994. An Evaluation of Toxic and Genotoxic Risk From Work Related Exposure to Chemical Compounds. *Prevenzione Oggi*, 6, 125-138.
- Singh, M., Sandhir, R., Kiran, R. 2006. Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Toxicological Evaluation of Commonly Used Organophosphate Pesticides. *Indian Journal of Experimental Biology*, 44(7), 580-583.
- Thapar, A., Sandhir, R., Kiran, R. 2002. Acephate Induced Oxidative Stress in Erythrocytes. *Indian Journal of Experimental Biology*, 40(8), 963-966.
- Tomizawa, M., Casida, J.E. 2005. Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action. *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology*, 45, 247-268.
- Yang, Z.P., Dettbarn, W.D. 1996. Diisopropyl Phosphofluoridate Induced Cholinergic Hyperactivity and Lipid Peroxidation. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 138, 48-53.
- Yu, M., Li, S.M., Li, X.Y., Zhang, B.J., Wang, J.J. 2008. Acute Effects of 1-Octyl-3-Methylimidazolium Bromide Ionic Liquid on the Antioxidant Enzyme System of Mouse Liver. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, 903-908.

## Isparta İli İçsu Balıkları Faunası ve Ekolojik Durumu

İskender GÜLLE<sup>1\*</sup>, Fahrettin KÜÇÜK<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Burdur

<sup>2</sup>Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Temel Bilimleri Bölümü, Isparta

Geliş : 21.04.2016

Kabul : 12.08.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*Sorumlu Yazar: igulle@mehmetakif.edu.tr

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Isparta İli sucul sistemlerinde fasıllı olarak yaklaşık 20 yıldır süregelen ancak, 2014-2015 yıllarında yoğun olarak gözden geçirdiğimiz arazi çalışmalarımız ışığında ve en son kayıtlara göre, 10 familyadan 36 balık taksonu belirlenmiştir. İl genelinde 21 tür ile temsil edilen Cyprinidae üyeleri en yaygın grup olup, ihtiyofaunanın %58'ini oluşturmaktadır. 1950'li yıllardan günümüze *Pseudophoxinus handlirschi* (kavinne), *Alburnus akili* (göğce) ve *Aphanius splendens* olmak üzere 3 endemik tür yok olurken, 9 yabancı tür faunaya dahil olmuştur. Ayrıca bu çalışma, Isparta İli lentic ve lotik sistemlerine ait ihtiyofauna üyelerinin görelî popülasyon yoğunlukları, tehditler ve izleme metodolojisi üzerine önerilerimizi de içermektedir. İki yıl süren izleme çalışmalarımız sonucunda faunayı tehdit eden başlıca etkenlerin; habitatlardan yoğun su çekimi, organik ve inorganik kirlenmeye bağlı olarak trofik düzey artışı, yoğun avcılık baskısı, yabancı tür girişleri, baraj/gölet gibi fiziksel engeller ve akarsu ıslah çalışmaları olduğu görülmüştür. İzleme çalışmalarımızda, IUCN kırmızı listesinde tehlike durumu henüz değerlendirilmemiş (NE) olan, Köprüçay Irmağı'nın yalnızca orta ve üst kesimlerinde yayılış gösteren *Salmo labecula* (kırmızı benekli alabalık)'nın çok nadir düzeyde bulunması, bu türün popülasyonunun çok yakın bir gelecekte yok olacağını düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** İçsular, biyoçeşitlilik, ihtiyofauna, tür izleme, koruma biyolojisi, limnoloji

### Fish Fauna and Ecological Aspects of Inland Water in Isparta Province, Turkey

#### Abstract

We determined 36 fish taxa belonging to 10 families according to the recent records and in the light of the field surveys where we have been continuing intermittently for about two decades but extensively reviewed between 2014 and 2015 throughout aquatic systems of Isparta Province. Cyprinids represented by 21 species across the province are common species and constitutes 58% of ichthyofauna. It is assumed that while three endemic species including *Pseudophoxinus handlirschi* (kavinne), *Alburnus akili* (göğce) and *Aphanius splendens* have become extinct (EX) from the 1950s to present, nine alien species are introduced into the fauna. This study further contains our suggestions about relative population density of ichthyofauna members within lentic and lotic systems of Isparta Province, and threats to them, methodologies for monitoring. The result of our monitoring studies for two years reveals that the major factors threatening the ichthyofauna are water abstraction, increase in the trophic level due to organic and inorganic pollution, intense fishing pressure, introduction of alien species in these systems, mechanical barriers such as dams and ponds, and side-effects of works on flood control and stream reclamation. Our monitoring studies preoccupy that population of *Salmo labecula*, which rarely distributes in only middle and upper zones of Köprüçay River and has not been evaluated (NE) according to IUCN red list status yet, could disappear from their relevant habitats in a near future.

**Keywords:** Inland water, biodiversity, ichthyofauna, biomonitoring, conservation biology, limnology

## GİRİŞ

Anadolu'nun da içinde olduğu Akdeniz havzasındaki içsu balıklarının (özellikle sazangillerin) türleşmesinin, bölgedeki paleoklimatolojik ve hidrojeolojik olayların ardından oligosen ve miyosen dönemlerindeki vikaryant gelişimler sonucu oluştuğu ileri sürülmüştür (Perea vd., 2010). Bu olaylar sonucu oluşan yalıtılmış içsu sistemlerinde özellikle Cyprinidae ve Cyprinodontidae gibi bazı familyalar içinde yoğun türleşmeler meydana gelmiştir (Wildekamp vd., 1999; Hrbek vd., 2002; 2004). Bu zenginleşmeler sonucunda, Türkiye içsularında Kuru vd. (2014)'ne göre 371, Çiçek vd. (2015)'ne göre ise 368 türün yaşadığı, bunlardan 153'nün (%41,58) endemik olduğu anlaşılmaktadır. Ancak 4 türün; *Alburnus nicaeensis* (İncibalığı, İznik Gölü), *Pseudophoxinus handlirschi* (kavinne, Eğirdir Gölü), *Alburnus akili* (göğce, Beyşehir Gölü) ve *Aphanius splendens* (yosunbalığı, Gölcük Gölü)'nin nesli tükenmiş (Küçük, 2012a; Kuru vd., 2014; Çiçek vd., 2015), 27 taksonun ise nesli tehlike sınırına (CR) gerilemiştir (IUCN 2015, ver. 3.1). Bahsedilen bu endemik taksonların büyük çoğunluğunu sırasıyla Cyprinidae, Nemacheilidae, Cobitidae, Cyprinodontidae ve Salmonidae üyeleri oluşturmuştur (Kuru vd., 2014; Çiçek vd., 2015).

Türkiye'de endemik taksonların en fazla bulunduğu alan, 10 takson ile Göller Bölgesi içerisinde kalan Beyşehir Gölü havzasıdır. Buna komşu olan Eğirdir Gölü havzası ise 3 endemik takson içermektedir. Isparta'nın ihtiyofaunası ile ilgili diğer bir konu, *Aphanius splendens* (Kosswig ve Sözer, 1945)'in durumudur. İlk tanımı Gölcük Gölü'nden yapılmış olan bu tür, Wildekamp vd. (1999) tarafından alttür seviyesine düşürülmüş, türün Salda Gölü'nde ve göle akan derelerde yaşadığı belirtilmiştir. Ancak, tür kavramında benimsenen son gelişimler doğrultusunda taksonun ilk tanımı korunmuş ve türün yalnız Gölcük Gölü'nde yaşadığı ve neslinin tükendiği açıklanmıştır (IUCN, 2015, ver. 3.1). Böylece Isparta içsularındaki tür kaybı 3'e yükselmiştir.

Bu çalışma ile Isparta İli içsu balık faunasının son taksonomik kayıtlara göre verilmesi, popülasyon ve habitat özellikleri ile tehdit ve tehlike durumlarının belirlenmesi ve izlenmesi gereken türlerin önerilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Isparta il sınırları içerisinde yer alan doğal veya yapay sucul ekosistemlerden 2014-2015 yılları içerisinde balık örneklem ve gözlemleri yapılmış, ayrıca geçmiş yıllara ait literatür ayrıntılı bir şekilde gözden geçirilmiştir. İzleme metodolojisi olarak Avrupa İçsu Balıkçılığı Danışma Komisyonu (EIFAC) tarafından önerilen yöntemlerden yararlanılmıştır (URL-1). Buna göre; arazi örneklemelerinde ağırlıklı olarak 12V DC elektroşoker, serpmeye ve ıgırıp ile yakalanan örnekler ek olarak, yerel balıkçılar ve sportif avcılardan da örnek temin edilmiştir. Akarsularda elektroşoker ile 50-100 m mesafede örneklem yapılmış, göllerde ise her örneklem bölgesinde ıgırıp ile 50-100 m<sup>2</sup> alan taranmıştır. Ticari avcılığı yapılan türlerin, 100-200 m uzunlukta türe özgü muhtelif balıkçı ağlarından yararlanılarak, görelî bolluk düzeyleri belirlenmiştir. Gözlem ve örneklem sonucunda, ilgili birim alanda belirlenen birey sayısı; 1-3 arasında "Nadir", 4-10 arasında "Az", 11-20 arasında "Orta", 21-50 arasında "Yoğun", 50'den fazla olması halinde ise "Çok Yoğun" olarak, yarı-kantitatif bir şekilde, ifade edilmiştir. İhtiyofaunanın izleme planı ise türlerin bolluk değerlerine, habitat/ekosistemlerin durumuna, endemiklik, gösterge ve ekonomiklik açısından araştırmacıların mesleki deneyimlerine dayanılarak oluşturulmuştur.

## BULGULAR

Isparta İli içsularında uzun yıllardır yaptığımız ihtiyofaunistik çalışmalar, 2014-2015 yıllarında yaptığımız biyolojik çeşitlilik envanteri belirleme/izleme çalışması ve literatür taraması sonucunda 10 familya'ya ait 36 takson belirlenmiştir. Bunlardan Cyprinidae 21, Cyprinodontidae 3, Nemacheilidae 3, Salmonidae 2, Cobitidae 2 ve Anguillidae, Atherinidae, Gobiidae, Percidae ve Poecilidae familyaları 1'er tür ile temsil edilmiştir. Bu türlerin familyalara göre dağılımında sazangiller faunanın %58'ini oluşturmuştur. Belirlenen türlerin IUCN (ver. 3.1) tehlike kategorisindeki durumları ve göreceli yoğunlukları Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Isparta ili içsu balıklarının IUCN tehlike kategorisi ve göreceli bolluk durumu

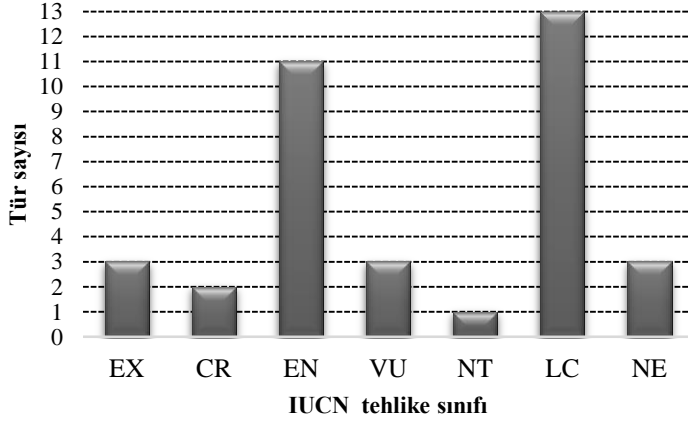
Familya	Tür	Habitat	IUCN* Bolluk	
<b>Anguillidae</b>	<i>Anguilla anguilla</i>	Aksu Ç. ve KBG.	CR	Nadir
<b>Salmonidae</b>	<i>Salmo labecula</i>	Köprüçay I. ve KBG.	NE	Nadir
	<i>Oncorhynchus mykiss**</i>	Köprüçay I. ve KBG.	NE	Orta
<b>Cyprinidae</b>	<i>Alburnus akili</i>	Beşşehir G. ve KBG.	EX	-
	<i>Alburnus escherichii**</i>	Beşşehir G. ve KBG.	LC	Orta
	<i>Alburnus cf. chalcoides</i>	Gölcük G. ve KBG.	LC	Yoğun
	<i>Cyprinus carpio</i>	Beşşehir G., Eğirdir G., Kovada G. Gölcük G., KBG ve diğer göletler	VU	Orta
	<i>Carassius gibelio**</i>	Beşşehir G., Eğirdir G., Kovada G. Gölcük G., KBG. ve diğer göletler	NE	Yoğun
	<i>Chondrostoma beysehirense</i>	Beşşehir G.	EN	Az
	<i>Capoeta antalyensis</i>	Köprüçay I. ve Aksu Ç.	VU	Yoğun
	<i>Capoeta mauricii</i>	Beşşehir G.	EN	Az
	<i>Capoeta pestai</i>	Eğirdir G.	CR	Nadir
	<i>Gobio microlepidotus</i>	Beşşehir G.	VU	Az
	<i>Hemigrammocapoeta kemali</i>	Köprüçay I. ve Karagöl bataklığı (Yeşilyurt Köyü, Isparta)	EN	Nadir
	<i>Pseudophoxinus anatolicus</i>	Beşşehir G.	EN	Az
	<i>Pseudophoxinus egridiri</i>	Eğirdir Gölü Havzası	EN	Az
	<i>Pseudophoxinus handlirschi</i>	Eğirdir G.	EX	-
	<i>Pseudophoxinus fahrettini</i>	Köprüçay I.	EN	Az
	<i>Pseudophoxinus hittitorum</i>	Beşşehir G.	EN	Az
	<i>Squalius anatolicus</i>	Beşşehir G.	LC	Orta
<i>Squalius fellowesii</i>	Aksu Ç.	LC	Az	
<i>Pseudorasbora parva**</i>	Eğirdir G., KBG. ve Aksu Çayı	LC	Yoğun	
<i>Tinca tinca</i>	Beşşehir G. ve Gölcük G.	LC	Orta	
<i>Vimba vimba</i>	Eğirdir G., KBG. ve Aksu Ç.	LC	Nadir	
<b>Gobiidae</b>	<i>Knipowitschia caucasica**</i>	Eğirdir G., KBG., Aksu Ç.	LC	Yoğun
<b>Cyprinodontidae</b>	<i>Aphanius anatoliae</i>	Beşşehir G. ve Eğirdir G.	NT	Çok Yoğun
	<i>Aphanius splendens</i>	Gölcük G.	EX	-
	<i>Aphanius sureyanus</i>	Burdur G.	EN	Yoğun
<b>Percidae</b>	<i>Sander lucioperca**</i>	Beşşehir G., Eğirdir G. ve KBG.	LC	Az
<b>Cobitidae</b>	<i>Cobitis büseli</i>	Beşşehir G.	EN	Orta
	<i>Cobitis turcica</i>	Eğirdir Gölü'ne boşalan akarsular	EN	Orta
<b>Nemacheilidae</b>	<i>Oxyneomacheilus mediterraneus</i>	Eğirdir Gölü'ne boşalan akarsular ve Aksu Ç. (Pazarköy, Isparta)	LC	Orta
	<i>Oxyneomacheilus eregliensis</i>	Beşşehir G. ve Şarkikarağaç Mevkii	EN	Orta
	<i>Seminemacheilus ispartensis</i>	Beşevler D. (Eğirdir) ve Eğirdir G.	LC	Orta
<b>Atherinidae</b>	<i>Atherina boyeri**</i>	Beşşehir G., Eğirdir G. ve KBG.	LC	Çok Yoğun
<b>Poecilidae</b>	<i>Gambusia holbrooki**</i>	Beşşehir G., Eğirdir G. ve KBG.	LC	Çok Yoğun

G.: Göl, I.: Irmak, Ç.: Çay, D.: Dere, KBG.: Karacaören Baraj Gölü

\*IUCN tehlike sınıfları: Nesli tükenmiş (EX), Kritik tehlikede (CR), Tehlikede (EN), Hassas (VU), Yakın tehdit altında (NT), Asgari endişe (LC), Değerlendirilmemiş (NE)

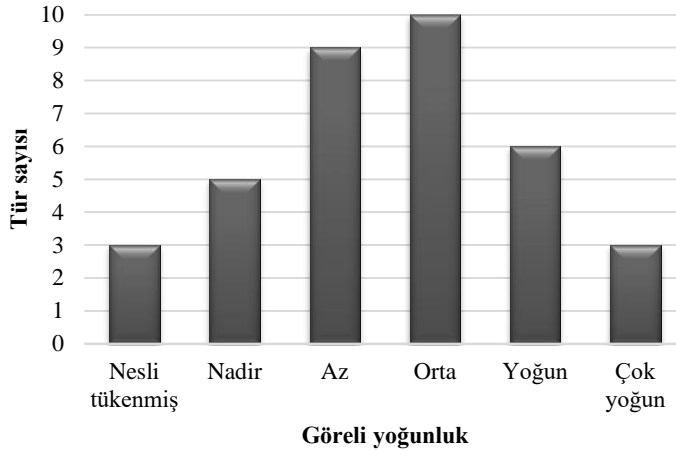
\*\*Yabancı tür

Tablo 1’de verildiği gibi, belirlenen türler IUCN kırmızı listesine (ver 3.1) göre gözden geçirildiğinde; faunanın %8’inin nesli tükenmiş (EX), %6’sının kritik tehlikede (CR), %31’inin tehlikede (EN), %8’inin hassas (VU), %3’ünün yakın tehdit altında (NT), %36’sının asgari endişe durumunda (LC) ve %8’inin değerlendirilmemiş (NE) olduğu görülmüştür (Şekil 1).



Şekil 1. Isparta ili içsu balıklarının IUCN tehlike kategorisine göre tür sayıları

Çalışmamızda, CR olarak belirtilen *A. anguilla* ve *C. pestai* nadir düzeyde; NE olarak bildirilen *S. labecula*, EN olarak bildirilen *H. kemali* ve LC olarak bildirilen *V. vimba* ise nadir bolluk düzeyinde belirlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde faunanın % 8’inin nesli tükenmiş, % 14’ü nadir, %25’i az, %28’i orta, %17’si yoğun ve %8’i çok yoğun bolluk düzeyinde değerlendirilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2. Isparta ili içsu balıklarının tür sayısı düzeyinde görelî bolluk durumu

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Eğirdir Gölü’ne, İstanbul Üniversitesi Hidrobiyoloji Enstitüsü tarafından 1955 yılında *S.lucioperca*’nın aşılmasından sonra faunada ilk önemli değişimler meydana gelmiştir.

Isparta İli içsu balıklarına ilişkin 1915 yılından (Deveciyan, 1915) günümüze kadar olan bilimsel çalışmalar ışığında “Isparta İli içsu balıkları” hakkında en son Küçük (2012b) tarafından 15’i yerli, 9’u yabancı olmak üzere toplam 24 balık taksonu verilmiş olup, bu çalışma kapsamında 36 tür/takson kaydedilmiştir.

Bu taksonlardan *A. akili*, *C. pestai*, *C. mauricii*, *P. handlirschi*, *P. egridiri* ve *S. ispartensis* yerel endemik türlerdir. Bunlardan, *A. akili* ve *P. handlirschi*’nin neslinin tükendiği (EX) anlaşılmıştır. Eğirdir ve Gölcük Gölü (Isparta)’ünde yaşayan *H. kemali*’nin bu göllerdeki popülasyonları yok olmuş, Gölcük Gölü’nden bildirilen başka bir tür *A. splendens*’in ise nesli tükenmiştir (EX). Faunaya giren 7 yabancı (egzotik) türden, yerli fauna üzerine en yıkıcı etkiyi *S. lucioperca*’nın verdiği, en yayılımcı türün ise *C. gibelio* olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır (Yeğen vd., 2005; Balık vd., 2006, Küçük vd., 2009, 2012b).

Isparta İli ihtiyofaunasına ilişkin izleme planı; endemik, gösterge ve ekonomik değeri yüksek türler için oluşturulmuştur (Tablo 2). Isparta İli İçsu balıkları izleme ve koruma planıyla ilgili olarak: Yalnızca Köprüçay Irmağı’nın üst havzasında (Başpınar Deresi) yaşayan *Salmo labecula*; temiz kaynak sularının tipik türleri olan *Pseudophoxinus fahrettini*, *Pseudophoxinus egridiri* ve *Pseudophoxinus hittitorum* ile nispeten temiz ortamları seven *Capoeta* türleri; ekonomik türlerden sazan (*C. carpio*) ve sudak (*S. lucioperca*) ile istilacı türlerden Çin sazanı (*C. gibelio*) ve Gümüş balığı (*A. boyeri*) öncelikli olmak üzere izlenmesi önerilen diğer türler ile ilgili ayrıntılı bilgi Tablo 2’de verilmiştir.

**Tablo 2.** Isparta ili içsu balıkları için önerilen izleme programı

Tür	İzlenecek Alan	İzleme Yöntemi / Zamanı
<i>Salmo labecula</i> (Endemik)	Köprüçay I. (Aksu-Isparta) Başpınar Kaynak bölgesi, Kartoz Çayı ve Yanıklar Deresi	Elektroşoker ve Serpme / yaz sonu
<i>Capoeta mauricii</i> (Yerel endemik)	Beyşehir Gölü’nün Yenişarbademli ilçesi Pınarbaşı Mevk. karstik kaynaklar bölgesi	Balıkçı ağı (en az 200 m) / yaz mevsimi
<i>Capoeta pestai</i> (Yerel endemik)	Eğirdir Gölü ve Çayköy Deresi’nin göle giriş bölgesi ve üst kısımları	Elektroşoker ve Serpme / yaz veya sonbahar
<i>Pseudophoxinus anatolicus</i> (Yerel endemik)	Beyşehir Gölü	Balıkçı ağı (en az 200 m) / yaz mevsimi
<i>Pseudophoxinus egridiri</i> (Yerel endemik)	Eğirdir Gölü, Yalvaç Deresi ve Karagöl (Yeşilyurt Köyü-Sütçüler)	Elektroşoker / yaz mevsimi
<i>Pseudophoxinus fahrettini</i> (Yerel endemik)	Köprüçay Irmağı, Bağlılı-Ayvalıpınar arası	Elektroşoker / yaz mevsimi
<i>Pseudophoxinus hittitorum</i> (Yerel endemik)	Beyşehir Gölü’nün Yenişarbademli ilçesi Pınarbaşı Mevk. karstik kaynaklar bölgesi	Elektroşoker / yaz mevsimi
<i>Hemigrammcapoeta kemali</i> (Yerel endemik)	Yeşilyurt Köyü Karagöl Bataklığı ve Köprüçay Irmağı Bağlılı-Ayvalıpınar arası	Elektroşoker / yaz mevsimi
<i>Capoeta antalyensis</i> (Endemik)	Kovada Ç., Aksu Ç. ve Karacaören I Baraj Gölü	Elektroşoker ve balıkçı ağı / yaz mevsimi
<i>Aphanius sureyanus</i> (Nokta endemik)	Burdur Gölü	İğrip / yaz mevsimi
<i>Cobitis bilseli</i> (Endemik)	Beyşehir Gölü’nün kıyısal alanları ve göle dökülen dereler	İğrip ve elektroşoker / ilkbahar, yaz mevsimi
<i>Seminemacheilus ispartensis</i> (Endemik)	Eğirdir Gölü ve Beşevler Deresi	elektroşoker / ilkbahar, yaz mevsimi
<i>Cyprinus carpio</i> (Ekonomik tür)	Eğirdir Gölü ve Beyşehir Gölü	Balıkçı ağları / yaz mevsimi

<i>Sander lucioperca</i> (Ekonomik tür)	Beyşehir Gölü ve Gölcük Gölü	Balıkçı ağları /yaz mevsimi
<i>Carassius gibelio</i> (İstilacı tür)	Eğirdir Gölü ve Beyşehir Gölü	Balıkçı ağları /ilkbahar
<i>Atherina boyeri</i> (İstilacı tür)	Eğirdir ve Beyşehir gölleri	İğrip /yaz mevsimi

Bazı fauna elemanlarının yoğunluk (bkz. Tablo 1) ve izleme çabalarının (bkz. Tablo 2) bir göstergesi olarak, *Salmo labecula* (kırmızı benekli alabalık)' ya ait izleme kriterleri ve durum değerlendirme çizelgesi örneği Tablo 3'de verilmiştir.

**Tablo 3.** Isparta ili, Köprüçay Irmağı yukarı havzası, Başpınar Kaynağı *Salmo labecula* popülasyonu görelî izleme ve değerlendirme sonuçları

<b>Habitat değerlendirme kriterleri</b>						
<b>Etkenler</b>	Kuruma	Aşırı Avcılık	Kirlilik	Su yapıları	Madencilik	Değerlendirme
<b>Mevcut Durum</b>	Evet	Evet	Evet	Evet	Hayır	Olumsuz
<b>Komünite değerlendirme kriterleri</b>						
<b>Etkenler</b>	Predasyon	Rekabet	Hastalık ve Parazitler	Besinsizlik	Değerlendirme	
<b>Mevcut Durum</b>	Evet	Evet	Belirsiz	Belirsiz	Belirsiz	
<b>Popülasyon değerlendirme kriterleri</b>						
<b>Gösterge</b>	Yetişkin birey yoğunluğu	Genç birey yoğunluğu	0+ yavru yoğunluğu	Değerlendirme		
<b>Mevcut Durum</b>	Nadir	Nadir	Düşük	Olumsuz		
<b>Genel Değerlendirme</b>			Popülasyon tehlikede			

Tablo 2'de yer alan türlerden *Salmo labecula*'nın durumu ayrıntılı olarak incelendiğinde (bkz Tablo 3); türün habitatlarını Başpınar Kaynağı ve yaklaşık 1 km sonrası ile Kartoz Çayı'nın oluşturduğu görülmüştür. Son 20 yıllık gözlemlerimizde, Başpınar Kaynağı'nın bazı yıllarda tamamen kurduğu, hatta bu kaynağın beslediği vadideki "Alabalık" işletmelerine bile Sorkuncak Göleti'nden su verildiği belirlenmiştir. Türün diğer habitatı olan Kartoz Çayı'nda da su alımları, enerji tesisleri yapım ve işletimleri nedeniyle bazı yıllarda veya dönemlerde suyun azalması, habitat parçalanmalarına ve popülasyonun küçülmesine neden olduğundan "kuruma" önemli bir risk faktörüdür.

Kırmızı benekli alabalık insan etkisinin yoğun olduğu bölgelerde olmasından dolayı, tür "Aşırı Avcılık" baskısına maruz kalmaktadır. Türe karşı bölgeden ve dışarıdan gelen insanların ilgisinin çok yüksek ve habitatların oldukça korunaksız olması türün avcılığını kolaylaştırmaktadır. Bu nedenle tür üzerinde aşırı avcılık önemli bir tehdit unsurudur. Başpınar kaynak bölgesinde alabalık işletmelerinin su alma yapıları, Kartoz Çayı'nda ise



tarımsal sulama yapıları ile son yıllarda yapılmakta olan Kasımlar HES nedeniyle "yol, tünel, köprü vb." çalışmalar popülasyon üzerinde önemli olumsuz etkiler yaratmıştır.

Kırmızı benekli alabalık habitatlarındaki başka bir tehdit de gökkuşağı alabalığının predasyonudur. Kesin bir kanıt olmamakla birlikte, aynı sistemde çiftliklerden kaçan çok sayıda gökkuşağı alabalığı bireyinin bulunması bu düşüncüyü güçlendirmektedir. Yaptığımız uzun süreli izlem ve gözlemlere dayanarak türün popülasyon yoğunluğu "Nadir" olarak değerlendirilmiştir. Zira, Başpınar Kaynağı'ndan sonraki yaklaşık 1 km'lik mesafede toplamda 5'den az bireye rastlanmıştır. Sonuç olarak, Köprüçay Irmağı'nın yalnız orta ve üst kesimlerinde yayılış gösteren *S. labecula* (Kırmızı benekli alabalık)'nın izleme çalışmalarında çok nadir düzeyde bulunması, bu türün yakın süreçte, belirtilen habitatlarda yok olacağını göstermektedir.

Su kaynakları üzerine inşa edilmiş gölet, regülatör ve diğer yapılar akarsularda habitat parçalanmasına neden olurken, özellikle son yıllarda çok yaygın olarak yapılan taşkın kontrolü ve ıslah çalışmaları ekosistemlerde aşırı bulanıklık, sedimantasyon ve çimento toksisitesi (URL-2) gibi önemli etkilere neden olduğundan; balıkların korunma, beslenme ve üreme alanları geri dönüşsüz olarak tahrip olmaktadır.

Envanter çalışmalarında Aksu Çayı sisteminde yaygın olarak bulunduğu belirtilen Eğrez (*V. vimba*)'e (Küçük ve İkiz, 2004) izleme çalışmalarında rastlanılamaz iken, yine bu ekosistemde bol miktarda bulunduğu bilinen yılan balığı (*A. anguilla*) popülasyonunun (Küçük ve İkiz, 2004) ise son derece nadir olduğu ve ekonomik avcılığının söz konusu olmadığı saptanmıştır.

Sazangillerden *C. mauricii* (Beyşehir sirazı, Beyşehir Gölü) ve *C. pestai* (Siraz, Eğirdir Gölü) türleri için göllerde en büyük tehdit olan *S. lucioperca*'nın predasyon etkisinin azalmasına karşın, aşırı avcılık ve habitat kaybı -özellikle üreme alanları- nedeniyle bu cinsin popülasyonlarının oldukça düşük seviyelerde olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle bu türler için mutlaka izleme ve koruma eylem planlarının uygulanması gerekmektedir.

Göller Bölgesi coğrafyası *Pseudophoxinus* (yağ balıkları, ot balıkları) 'un dünyadaki ve ülkemizdeki başlıca çeşitlenme merkezlerinden biri olarak kabul edilmekte olup (Hrbek vd., 2004), bu bölgeye dahil olan Isparta'da bu cinsin 4 türü yayılış göstermesine karşın, bunlardan *P. handlirschi* (kavinne, Eğirdir Gölü)'nin nesli yok olmuştur (Küçük, 2012a). Diğer türler için en büyük sorun habitat kaybı ve egzotik türlerin olumsuz etkileridir.

Ülkemizin içsuları için istilacı olarak kabul edilen ve Isparta genelinde de yaygın olan *C. gibelio* (Çin sazanı), *P. parva* (çizgili sazancık) ve *G. holbrooki* (sivrisinek balığı) türlerinin (İnnal ve Erk'akan, 2006) yerli popülasyonlar üzerindeki olumsuz etkileri bilinen bir durumdur. Ekonomik türlerden sazanın Beyşehir, Eğirdir gölleri ve Karacaören I barajında; sudağın ağırlıklı olarak Beyşehir Gölü'nde; kadife balığının ise yalnızca Beyşehir Gölü'nde ekonomik ölçekte avlanabilen türler olduğu belirlenmiştir.

Günümüzde, Isparta İli içsu balıkları biyolojik çeşitliliğine ilişkin tehditler önem sırasına göre: Su sistemlerinin hidrolojik ve topoğrafik yapısının değiştirilmesi sonucu habitat kaybı veya parçalanması; evsel atıksu ve tarımsal drenaj suları nedeniyle sistemlerin trofik düzeyinde artış; aşırı, zamansız ve uygunsuz yöntemlerle yapılan her türlü avcılık nedeniyle popülasyonların küçülmesi ve istilacı/predatör türlerin ekosistem mühendisliği nedeniyle biyotanın tahribi veya değişmesidir. Eğirdir Gölü ve Beyşehir Gölü habitatlarında yaşayan endemik türlerin popülasyonunda olumsuz etkilerin görece sınırlı olmasına karşın, akarsu ve kaynak sularında yaşayan tüm türler yok olma tehlikesi altındadır.

Isparta İli balık faunası üzerine taksonomik araştırmaların yeterli, ancak ekolojik etkileşim, izleme ve korumaya ilişkin verilerin yok denecek kadar az oluşu dikkati çekmiştir. Buna istinaden, özellikle türlerin popülasyon, habitat ve ekosistem düzeyindeki özellikleriyle ilgili araştırmaların öncelikle yapılması gerekmektedir. Sonuç olarak, türlerin korunamaması veya yokoluşları sürecinde; su kaynaklarının yönetilememesi, izleme-korumada yetersiz kalınması, bilgi ve bilinç noksanlığı başlıca etkenler olarak görülmektedir.

### Teşekkür

Bu çalışmanın yapılmasında dolaylı katkıları için Orman ve Su işleri Bakanlığı 6. Bölge Müdürlüğü'ne ve EKOİZ ÇEVRE (Ankara) firmasına teşekkür ederiz.

### KAYNAKLAR

- Balık, İ., Çubuk, H., Özkök, R., Uysal, R. 2006. Eğirdir Gölü Balık Faunası ve Balıkçılığı: Sudak Balığının (*S. lucioperca*, 1758) Aşılındığı 1950'li Yıllardan Günümüze Değişimler. I. Ulusal Balıklandırma ve Rezervuar Yön. Semp. 7-9 Şubat 2006 Antalya. (ed. Emre, Y. ve Diler, İ.) T.C. Tarım ve Köyüşleri B., Akdeniz Su Ür. Araş. Üretim ve Eğitim Enst., 105-118.
- Çiçek, E., Birecikligil, S.S., Fricke, R. 2015. Freshwater Fishes of Turkey: A Revised and Updated Annotated Checklist. *Biharean Biologist*, 9 (2),141-157.
- Deveciyan, K. 1915. *Fishe und Fisheri in der Turkei*. Konstantinopol-İstanbul.
- Hrbek, T., Küçük, F., Frickey, T., Stölting, K.N., Wildekamp, R., Meyer, A. 2002. Molecular Phylogeny and Historical Biogeography of the *Aphanius* (Pisces, Cyprinodontiformes) species complex of central Anatolia. *Turkey, Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25, 125-137.
- Hrbek, T., Stölting, K. N., Bardakçı, F., Küçük, F., Wildekamp, R.H.and Meyer, A. 2004. Plate Tectonics and Biogeographical Patterns of *Pseudophoxinus* (Pisces: Cypriniformes) Species Complex of Central Anatolia, Turkey. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32, 297-308.
- İnnal, D., Erk'akan, F. 2006. Effects of Exotic and Translocated Fish Species in the Inland Waters of Turkey. *Rev Fish Biol Fisheries*, 16, 39-50.
- Kuru, M., Yerli, S., Mangıt, F., Ünlü, E. 2015. Fish Biodiversity in Inland Waters of Turkey. *Journal of Academic Documents for Fisheries and Aquaculture*, 1(3), 93-115.
- Küçük, F., İkiz, R. 2004. Antalya Körfezi'ne Dökülen Akarsuların Balık Faunası, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 21(3-4), 287-294.
- Küçük, F., Sarı, H.M., Demir, O., Gülle, İ. 2009. Review of the Ichthyofaunal Changes in the Lake Eğirdir Between 1915 and 2007. *Tr. Journal of Zoology*, 33, 277-286.
- Küçük, F. 2012a. Extinct Endemic Fishes of Turkey: *Alburnus akili* (Gövce) and *Pseudophoxinus handlirschi* (Kavinne) (Pisces: Cyprinidae). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12, 1-2. DOI: 10.4194/1303-2712-v12-2-21.
- Küçük, F. 2012b. Isparta İli Balık Faunasının Son Durumu ve Sorunları Biyolojik Çeışlilik Sempozyumu, TC. Orman Su İşl. Bak. Doğa Koruma ve Milli Parklar. Genel Müd. 22-23 Mayıs 2012, Ankara.
- Perea, S., Böhme, M., Zupančić, P., Freyhof, J., Šanda, R., Özuluğ, M., Abdoli, A., Doadrio, I. 2010. Phylogenetic Relationships and Biogeographical Patterns in Circum-Mediterranean Subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) Inferred from Both Mitochondrial and Nuclear Data. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 265. doi:10.1186/1471-2148-10-265.
- URL-1. Guidelines for Fish Monitoring in Fresh Waters. EIFAC working party on fish monitoring in fresh waters. <ftp://ftp.fao.org/Fi/DOCUMENT/eifac/wp/fmfw/DraftGuidelinesMonitoringFishFreshwaters.pdf> (erişim 18.04.2016)

- URL-2. Toxicity of Portland Cement to Salmonid Fish. <http://www.dfo-mpo.gc.ca/Library/263027.pdf> (erişim 18.04.2016)
- Wildekamp, H.R., Küçük, F., Ünlüsayın, M., Van Neer, W. 1999. Species and Subspecies of the Genus *Aphanius* Nordo 1897 (Pisces: Cyprinodontidae) in Turkey. Tr. J. of Zoology, 23, 23-44.
- Yeğen, V., Balık, S., Bostan, H., Uysal, R., Ustaoglu, R., Sarı, H. M., İlhan, A. 2005. Isparta İli Balık Faunası. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Yayın no. 4, Eğirdir.

## Akdeniz Bölgesi Sahil Şeridi Deniz Balıkçılığının Sosyoekonomik Yapısı\*

Naciye ERDOĞAN SAĞLAM\*\*, Emir KARADAL

Ordu Üniversitesi, Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi, Ordu

Geliş : 25.04.2016

Kabul : 28.07.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*\*Sorumlu Yazar: nes-34@hotmail.com

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Bu çalışmada Hatay, Adana, Mersin ve Antalya illeri Akdeniz sahil şeridi limanlarına kayıtlı balıkçı tekneleri sahiplerinin örgütlenme ve sosyoekonomik yapıları değerlendirilmiştir. Hatay İl'inde 99, Adana'da 11, Mersin'de 53 ve Antalya'da 89 kişi olmak üzere sahil şeridinde tüm ilçe ve beldelerde faaliyette bulunan 253 adet balıkçı ile anket yapılmıştır. Yapılan değerlendirmeler sonucunda tekne sahiplerinin sosyoekonomik yönden önemli farklılıkları olmadığı görülmüş, sosyal güvencelerinin olmaması, gelir seviyelerinin düşük olması, bilinçsiz avlanmanın önüne geçilememesi ve denetimlerin yetersiz olması gibi sorunlar tespit edilmiştir.

*Anahtar kelimeler:* Akdeniz, sosyoekonomik yapı, deniz balıkçılığı, Türkiye

### Socio-economic Structure of Pelagic Fishing in the Coastal Mediterranean Region

#### Abstract

In this research, collective organization structure and the socio-economic conditions of the fishermen with fishing boats registered to the harbors in provinces of Hatay, Adana, Mersin and Antalya on the Mediterranean coast. A survey was carried out with the participation of 253 fishermen consisting of 99 fishermen from the province of Hatay, 11 from Adana, 53 from Mersin and 89 from Antalya all of whom work in various counties and districts of the given provinces. As a result of the evaluations, it was seen that the boat owners didn't vary significantly in terms of socio-economic parameters, furthermore; problems such as having no social securities, low incomes, not being able to prevent insensible fishing and lack of supervision were detected.

*Keywords:* Mediterranean Sea, socio-economy, marine fisheries, Turkey

**\*Bu çalışma yüksek lisans tezinden özetlenmiştir**

## GİRİŞ

Günümüzde, özellikle gelişmiş ülkelerde insanlar beslenmelerine çok dikkat etmektedir. Besleyici değeri oldukça yüksek, insan beslenmesi için son derece önemli bir gıda kaynağı olan, çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin balık ve diğer su ürünleri beslenmede ilk sıralarda yer almaktadır.

Akdeniz'in kıyı kesimi deniz balıkçılığı açısından Hatay, Adana, Mersin, Antalya illeriyle sınırlandırılmakta ve avlanan su ürünleri ile Türkiye ekonomisine katkı sağlamaktadır. Ayrıca bölge insanlarına geçim kaynağı sağlaması açısından da önemli bir yere sahiptir.

Akdeniz Bölgesi Türkiye'nin toplam avlanan deniz ürünlerinin %4,6'sına, tekne sayısının da %12,7'sine sahiptir. Bu göstergeleri ile bölge deniz ürünleri avcılığında diğer 3 büyük denizin gerisinde kalmakla birlikte, bölgede tür çeşitliliği diğer bölgelerden daha fazladır (Taşdan vd., 2010).

Ülkemiz denizlerinin farklı kıyı yapılarına ve av potansiyeline sahip olması bu bölgelerde avlanan balıkçılık filolarında da farklılıklar oluşturmaktadır. Avcılık trol, uzatma ağları, fanyalı ağlar, uzun oltalar, kapanlar ve orkinos türleri için gırgır ağları ile yapılmaktadır.

Türkiye’de toplamda kayıtlı 13.727 adet teknenin 1.847 adedi Akdeniz’dedir. En fazla tekne sayısı ise uzatma avcılığı, paraketa ve olta balıkçılığı gibi, trol ve gırgır dışındaki avcılık faaliyetlerini gerçekleştiren teknelerdir (Tablo 1). (TÜİK, 2013),

**Tablo 1.** Akdeniz’deki avcılık yöntemine göre tekne sayıları ve av araçları

	<b>Toplam</b>	<b>Akdeniz</b>
<b>Trol gemisi</b>	741	202
<b>Gırgır gemisi</b>	454	60
<b>Taşıyıcı gemi</b>	173	8
<b>Uzatma ağları</b>	8315	868
<b>Algarna ve dreçler</b>	297	7
<b>Paraketa ve oltalar</b>	3421	697
<b>Diğer</b>	326	5
<b>Toplam</b>	<b>13.727</b>	<b>1847</b>

Bu araştırmada, Akdeniz bölgesi deniz balıkçılığının durumu, balıkçıların örgütlenme yapıları, kooperatiflerin yapısı ve sorunları ile kooperatif üyesi balıkçıların sosyoekonomik yapısının ortaya koyulması amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve YÖNTEM

Çalışma, 2014 yılında Akdeniz bölgesinde yer alan Hatay, Adana, Mersin, Antalya illerinde avcılık yapan balıkçıları ve tekne sahipleri ile yüz yüze görüşmeler yoluyla doldurulan anket formlarından elde edilen verilerle yürütülmüştür (Şekil 1). Ayrıca Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı İl ve İlçe Müdürlüklerinden elde edilen teknelere (Hatay 469, Adana 204, Mersin 654, Antalya 753 adet) ve kooperatiflere ait bilgilerden, TÜİK balıkçılık istatistiklerinden ve üniversitelerce yapılan araştırma sonuçlarından faydalanılmıştır.



**Şekil 1.** Çalışma sahası (Anonim, 2014)

Araştırma, Akdeniz Bölgesi'nde deniz balıkçılığı yapan 253 adet balıkçı ile 23 adet sorudan oluşan bir anket çalışması yapılarak yürütülmüştür. Anket sorularına verilen kesin cevaplar üzerinden hesaplama yapılmıştır. Örneklenecek anket sayıları hesaplanırken Hatay, Adana, Mersin ve Antalya illerinde tabakalı örnekleme yöntemi kullanılmıştır. %95 güven aralığında %5 hata payı oranında hesaplama yapılmıştır.

Örnek büyüklüğünün hesaplanmasında kullanılan eşitlik aşağıda verilmiştir (Yamane, 1962):

$$n = [N \sum (Nh Sh^2)] / [N^2 D^2 + S Nh Sh^2] \quad (1)$$

Bu eşitlikte :

n: Toplam örnek sayısı

N: Toplam balıkçı teknesi sayısı

Nh: Söz konusu ildeki balıkçı teknesi sayısı

Sh: Söz konusu ildeki gemilere ait standart sapma

Sh<sup>2</sup>: Söz konusu ildeki gemilere ait varyans

D<sup>2</sup>: d<sup>2</sup> / Z<sup>2</sup>

(2)

d: 0.10\*X değerine eşit olup, popülasyon ortalamasında izin verilen hata

Z: %95 güven sınırına göre normal dağılım tablosundaki Z değeri

Buna göre Hatay, Adana, Mersin ve Antalya illeri için aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir. Tablo 2'de Hatay, Adana, Mersin ve Antalya için yapılması gereken anket sayıları ve yapılan anket sayıları verilmiştir. En fazla örnekleme yapılan iller Antalya ve Hatay'dır. En az örnekleme ise Adana ilinde yapılmıştır.

**Tablo 2.** İllerde hesaplanan ve uygulanan örnek sayıları

İller	Toplam tekne sayısı (n)	Toplam tekne sayısı (%)	Hesaplanan örnek sayısı (n)	Hesaplanan örnek oranı (%)	Uygulanan örnek sayısı (n)	Uygulanan örnek oranı (%)
Hatay	469	22,55	29	30,85	99	39,13
Adana	204	9,81	11	11,70	11	4,34
Mersin	654	31,44	19	20,21	54	21,34
Antalya	753	36,20	35	37,24	89	35,17
<b>Toplam</b>	2080	100,00	94	100,00	253	100,00

Balıkçıların sosyal ve ekonomik durumu ile kooperatifleşmeyi anlamaya yönelik olarak anket formları oluşturulmuştur.

Anket formunda teknelerin teknik ve fiziksel özellikleri, kullanılan av araçları, teknede çalışan tayfa sayıları, tayfalara yapılan ödeme şekli, balıkçıların yaş ve eğitim durumları, çocuk sayıları, sosyal güvence durumları, balıkçılığı seçme nedenleri, gelir memnuniyetleri, ürün pazarlama şekilleri ve kooperatif üyelikleri gibi sorulara yer verilmiştir. Fakat anket formunda yer alan bazı sorulara tüm balıkçılar tarafından net yanıtlar verilememesi nedeniyle tekne donanımları, tekne özellikleri (GT), yapım yeri ve yılı gibi konular araştırma kapsamına dahil edilememiştir.

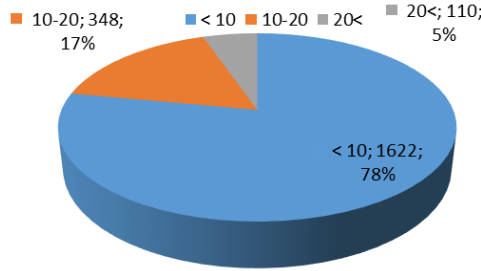
Çalışma süresince anketlerden elde edilen veriler, SPSS ve Excel programında düzenlenmiş, mutlak ve oransal olarak hesaplanmış, tablo ve grafikler halinde sunulmuştur.

## BULGULAR

Bulgular çalışma amacı doğrultusunda teknelerin fiziksel ve teknik özellikleri ile balıkçıların sosyoekonomik yapıları olarak iki ayrı aşamada incelenmiştir.

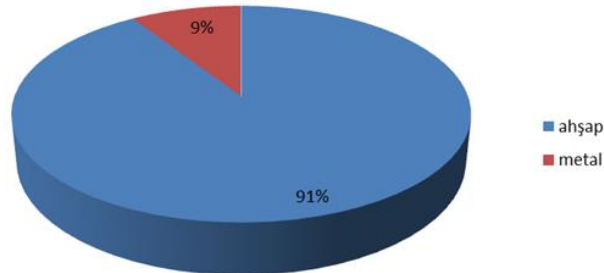
### Avlama Filosunun Teknik ve Fiziksel Özellikleri

Çalışma alanında Hatay, Adana, Mersin ve Antalya İl ve ilçelerine bağlı bulunan tarım müdürlüklerinden elde edilen veriler aracılığı ile avlama filosunun teknik özellikleri belirlenmiştir. Bu verilere göre; bölgede balıkçılıkla uğraşan teknelerin %78'inin 10 m'den küçük kıyı balıkçılığı yapan %17'sinin 10-20 metre arası tekneler ve %5'inin 20 m'den büyük gırgır ve trol balıkçılığı yapan tekneler olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2).



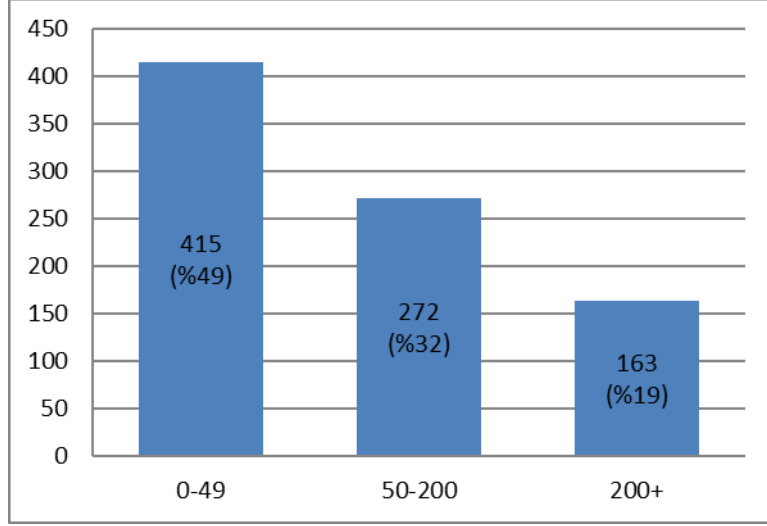
Şekil 2. Tekne boyları (m)

Bölgedeki teknelerin %9'unun metal ve %91'inin ahşap malzemeden yapıldığı görülmüştür (Şekil 3). Ahşap teknelerin daha fazla kullanılmasının nedeni araştırılmış, su aldıklarında kolay batmamaları, bakım ve onarımlarının basit ve ucuz olduğu, kıyıya kolayca çıkarılabilmeleri gibi nedenlerle daha fazla tercih edildiği belirtilmiştir.



Şekil 3. Yapım malzemesine göre tekneler

Kullanılan teknelerin %49'unun 1-50 hp arasında, %32'sinin 51-200 hp arasında motor gücüne sahip olduğu ve kalan kısmında 200 hp'den daha fazla motor gücüne sahip oldukları görülmüştür (Şekil 4).



Şekil 4. Tekne motor gücü oranı

### Balıkçıların Sosyoekonomik Yapıları

Akdeniz Bölgesi'nde tekne sahibi ve tayfalarla yapılan anketler sonucunda sosyoekonomik durumları incelenmiş, %67'sinde 2-3, %5'inde 4'ten fazla tayfa çalıştığı, %28'inde ise 1 veya hiç tayfa çalışmadığı, tayfa çalıştırmayan tekne sahiplerinin ödeme yapmadığı, kalan kısmında %77'sinin pay, %19'unun ise maaş şeklinde ödeme yaptığı belirlenmiştir. Tayfaların %76'sının aile dışından, %22'sinin aileden, %22'sinin hem aileden hem dışarıdan oluştuğu görülmüştür. Ayrıca balıkçıların tamamının eşi ile birlikte balığa çıkmadığı, %68'inde aynı aileden 0-2 kişinin, %29'unda 3-5 kişinin, %3'ünde ise 6'dan fazla kişinin balıkçılık yaptığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

Balıkçıların yaşlarının %56'sının 31-50 yaş arasında, %7'sinin 30 yaşından küçük, %37'sinin 50 yaş üstünde olduğu belirlenmiş, %66'sının ilkokul, %26'sının ortaokul, %7'sinin lise, %1'inin ise üniversite mezunu olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3).

Balıkçıların %82'sinin evli, %16'sının bekar, %2'sinin boşanmış olduğu, %54'ünün 0-3, %44'ünün 4-7 arasında, %2'sinin ise 7'den fazla çocuğu olduğu belirlenmiş, %61'inin ev sahibi, %39'unun kiracı olduğu tespit edilmiştir. Balıkçıların %3'ünün 45 yıldan fazla süredir, %90'ının ise ortalama 30 yıldır balıkçılık yaptığı belirlenmiş, minimum 1 yıllık maksimum 60 yıllık balıkçılık tecrübesi olan bireye rastlanmıştır. Anket sonuçlarına göre %44'ü balıkçılığı bırakmayı düşünmediklerini, %56'sı bu işi mecburiyetten yaptıklarını, ileride bırakmayı düşündüklerini, çalışma şartları ve gelir memnuniyetsizliği nedeniyle %94'ünün çocuklarının balıkçılık yapmasını istemediğini bildirmişlerdir. Balıkçıların %1'i balıkçılıktan elde ettikleri gelirin iyi olduğunu, %16'sının orta düzeyde, %83'lük kısım ise gelirin yetersiz olduğunu bildirmişlerdir. %25'inin baba mesleği olması nedeniyle işlerini sürdürdükleri, %31'inin deniz tutkusundan kaynaklı hobi olarak balıkçılık yaptığı, %44'ünün ise zorunluluktan balıkçılık yaptığı belirlenmiştir. %78'inin geçimini yalnızca balıkçılıktan sağladığı, %22'sinin ise balıkçılık dışında şoförlük, inşaat,



mobilya, çiftçilik ve farklı ticaret alanlarından geçim sağladıkları, %72'sinin sosyal sağlık kuruluşlarına üye olduğu %28'inin ise hiçbir sağlık güvencesi olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 3).

Balıkçıların %24'ünün balığa çıkma süresi minimum 6 ay, maksimum 9 ay, kalan kısmın 9 aydan fazla olduğu, günlük çalışma sürelerinin ortalama 4-10 saat arasında olduğu, %70'inin ise 10 saatten fazla denizde kaldıkları tespit edilmiştir (Tablo 3).

Balıkçıların %72'sinin kooperatif ve birliklere üye olduğu, %11'inin saygınlık ölçüsü olarak görmesi sebebiyle, %84'ünün bürokratik kolaylıklardan faydalanmak amacı ile %5'inin ise pazarlamada fiyat avantajı sağlamak için kooperatife üye olduğu tespit edilmiştir. %79'u avladıkları ürünü komisyoncular aracılığı ile %16'sı kendi teknelerinden satış yaparak, %5'i ise kooperatifler aracılığıyla pazarlama yaptığını bildirmişler ve %79'unun pazarlama yaparken fiyat farklılığı, rekabet gibi sorunlar yaşadıkları tespit edilmiştir (Tablo 3).

**Tablo 3.** Sosyoekonomik göstergeler

Tayfa Sayısı	<b>0-1</b>	25	10	41	81
	<b>2-3</b>	59	-	8	5
	<b>4&gt;</b>	4	-	5	3
Tayfa Durumu	<b>Aileden</b>	12	1	3	36
	<b>Dışarıdan</b>	73	9	51	52
	<b>Hem dışarıdan Hem aileden</b>	-	-	-	1
	<b>Sadece kendisi</b>	5	-	-	-
Eşi İle Balığa Çıkanlar	<b>Evet</b>	-	-	-	-
	<b>Hayır</b>	99	11	53	89
Tayfa Ödeme Şekli	<b>Maaş</b>	30	-	13	4
	<b>Pay</b>	55	9	41	83
	<b>Diğer</b>	5	1	-	2
Yaş Durumu	<b>16-30</b>	11	2	5	-
	<b>31-50</b>	57	5	37	36
	<b>50&gt;</b>	22	3	12	53
	<b>Ortalama</b>	43,9	37,54	43,6	51,9
Eğitim Durumu	<b>İlkokul</b>	53	9	40	57
	<b>Ortaokul</b>	26	-	14	23
	<b>Lise</b>	9	1	-	8
	<b>Yüksekokul</b>	2	-	-	1
	<b>Yok</b>	-	-	-	-
Medeni Hali	<b>Evli</b>	64	9	46	80
	<b>Bekar</b>	23	1	8	8
	<b>Boşanmış</b>	3	-	-	1
Çocuk Sayısı	<b>0-3</b>	26	5	24	52
	<b>4-7</b>	35	3	19	30
	<b>7&gt;</b>	4	-	-	-
	<b>Ortalama</b>	2,2	1,9	1,96	2,23
Barınma Durumları	<b>Ev sahibi</b>	54	6	27	50
	<b>Kiracı</b>	36	4	27	39
	<b>Barınak</b>	-	-	-	-
Ailede Balıkçılık Yapan Kişi Sayısı	<b>0-2</b>	11	10	54	78
	<b>3-5</b>	10	-	-	10
	<b>6&gt;</b>	-	-	-	1
	<b>Ortalama</b>	0,57	0	0,11	0,33
Balıkçılığı Seçme Nedenleri	<b>Baba mesleği</b>	15	4	20	21
	<b>Zorunluluk</b>	60	2	17	29
	<b>Deniz tutkusu</b>	14	4	17	37
Balıkçılık Tecrübesi (yıl)	<b>15&lt;</b>	8	1	2	2
	<b>15-45</b>	50	9	49	84

	<b>45&gt;</b>	2	-	3	3
	<b>Ortalama</b>	27,15	20,9	25,4	32,6
Bırakma Düşünceleri	<b>Evet</b>	61	2	18	27
	<b>Hayır</b>	29	8	36	62
Çocuklarının Yapmasını İsteyenler	<b>Evet</b>	9	2	2	7
	<b>Hayır</b>	84	9	52	82
Balığa Çıkma Zamanları (ay)	<b>2-5</b>	-	-	-	-
	<b>6-9</b>	24	-	11	25
	<b>10-12</b>	70	11	43	64
Günlük Çalışma Süresi (saat)	<b>4-6</b>	3	7	39	32
	<b>6-8</b>	5	-	-	-
	<b>8-10</b>	14	1	-	3
	<b>10&gt;</b>	73	3	15	54
Geçimini Balıkçılıktan Sağlayanlar	<b>Evet</b>	75	5	37	74
	<b>Hayır</b>	19	5	17	15
Gelir Memnuniyeti	<b>İyi</b>	2	-	-	1
	<b>Orta</b>	22	-	2	14
	<b>Kötü</b>	70	11	49	74
Sosyal Güvence	<b>Var</b>	61	7	30	63
	<b>Yok</b>	33	3	24	22
Sosyal Üyelik	<b>Var</b>	41	7	48	81
	<b>Yok</b>	51	4	6	8
Balığı Pazarlama Şekli	<b>Komisyoncu</b>	70	9	47	66
	<b>Kendi</b>	9	1	7	22
	<b>Kooperatif</b>	11	-	-	1
Pazarlamada Yaşanan Sorunlar	<b>Var</b>	58	11	47	80
	<b>Yok</b>	38	-	7	9
Kooperatif Üyesi Olma Nedenleri	<b>Saygınlık ölçüsü olarak</b>	2	-	6	7
	<b>Pazarlamada fiyat avantajı olsun diye</b>	3	-	4	-
	<b>Bürokratik kolaylıklardan faydalanmak</b>	27	9	37	66

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu araştırmada Akdeniz Bölgesi deniz balıkçılığının sosyoekonomik durumunu ortaya koyup, mevcut sorunları tespit etmek ve çözüm önerileri sunmak amaçlanmıştır.

Yapılan çalışma neticesinde balıkçılığın bölge insanının yaşamında önemli bir yer teşkil ettiği görülmüştür.

Araştırma sonuçları değerlendirildiğinde; Bölgenin %77'sinde 12 m'den küçük teknelerle balıkçılık yapılması, gerek ekolojik koşullar gerekse ekonomik durumdan kaynaklı yöre insanının küçük balıkçılığa eğilim göstermiş olmasının sonucudur. Ayrıca küçük tekneler dışındaki teknelerin trol ve gırgır tekneleri olması bölgede gırgır ve trol balıkçılığının da yaygın olduğunun bir göstergesidir. Bunun yanında, su aldıklarında kolay batmamaları, kıyıya kolayca çıkartılabilmeleri ve tamiratlarının balıkçılar tarafından da yapılabilmesi nedeniyle %91'lik kısımda teknelerin yapımında ahşap malzeme tercih edildiği belirlenmiştir.

Sosyal grupta değerlendirilen konular içinde en önemlisi olan tayfa ile ilgili bilgiler irdelendiğinde bölgedeki teknelerin %65'lik kısmının en az 1 tayfa ile çalışması dikkat çekmektedir. Akdeniz'de balıkçılar en az 1 tayfa ile çalışmakta iken Karadeniz bölgesinde balıkçıların 2-3 tayfa ile çalışmaları Karadeniz'deki balıkçılığın Akdeniz bölgesine oranla daha aktif olduğuna işaret etmektedir. Akdeniz bölgesinde turizm alanında da iş bulma

imkânının fazla olması, genç nüfusun bu alanda çalışmaya rağbet ettiğinin göstergesi olabilir.

Eşleri ile birlikte balığa çıkan bireylerin oranını incelediğimizde bölgedeki balıkçıların tamamının eşi ile birlikte balığa çıkmaması göze çarpan önemli noktalardan birisidir. Bu durum kadınların sektör içinde yer almadığının göstergesidir.

Yapılan anketler sonucunda balıkçılardan alınan bilgilere göre 30 yaşından büyük olan balıkçıların %93 oranında bulunması gençlerin balıkçılığa ilgi duymadıklarına işaret etmektedir. Bölgede yaşayan gençler balıkçılık yerine turizm başta olmak üzere farklı iş alanlarını tercih etmektedirler. Diğer yandan balıkçılık deneyimlerinin ortalama olarak 15 yıldan fazla olması bu mesleğin geçmişten günümüze yok olmayan bir meslek olduğunun da göstergesidir.

Eğitim durumları değerlendirildiğinde Akdeniz’de yer alan balıkçıların eğitim durumlarının diğer bölgelere göre daha düşük oranlarda olduğu görülmüştür. Özellikle Akdeniz bölgesinin en sosyal ve gelişmiş illerinden olan Hatay, Mersin ve Antalya’da balıkçılar arasında nadir de olsa üniversite mezunlarının çalıştığı dikkat çekmektedir. Yüksekokul mezunlarının bu illerde turizm sektörüne yönelmesi balıkçılığı iş alanı olarak görmelerinde ikinci plana atmaktadır. Uzmanoğlu vd. (2013) Eğridir Gölü’nde yaptıkları çalışmada balıkçıların % 72,50’sinin ilkokul, %15,83’ünün ortaokul, % 8,33’ünün de lise ve % 1,67’sinin de üniversite mezunu olduğu belirtmişlerdir. Akçakoca ve Gökçeada balıkçıları ile yapılan çalışmalarda sırasıyla, 30-39 yaş; %18, %8, 40-49 yaş; %36, %46, 50-59 yaş; %33, %29, 60 yaş üstü; %13, %8 oldukları bildirilmiştir. Bunun yanısıra İlköğretim, lise ve üniversite mezunları Akçakoca, Gökçeada, Zonguldak ve Orta Karadeniz balıkçıları ile yapılan çalışmalarda sırasıyla; %67, %31,%2; %54, %29, %17; %76, %20, %4 ve %81, %18, %1 olarak belirtilmiştir (Yücel, 2006; Doğan ve Gönülal, 2011; Aksoy ve Koç, 2012; Yağlıoğlu, 2013). Taşdan vd. (2010) Hatay-Muğla (Fethiye) arasında yer alan kıyı şeridinde bulunan bölgede yaptıkları çalışmada ortalama balıkçı yaşının 44 ve ortalama mesleki tecrübe süresinin 25 yıl olduğunu, ortalama hane halkı genişliğinin 3,8 kişi ve balıkçıların %61’inin ilkokul mezunu olduğunu bildirmişlerdir.

Balıkçılıkla uğraşan ailelerin ortalama 3 çocuğa sahip olması, bireylerin geçim sıkıntısı nedeniyle daha fazla çocuk yapmayı tercih etmediğini işaret etmektedir. Gökçeada balıkçıları ile yapılan çalışmada %83,3’ünün evli olduğu, hane halkı nüfusunun 1-6 kişi olduğu ve en yüksek oranda %33,3 ile 4 kişi oldukları (Doğan ve Gönülal, 2011), Zonguldak balıkçıları ile yapılan çalışmada %78’inin evli, %22’sinin bekar oldukları (Aksoy ve Koç, 2012), Akçakoca balıkçıları ile yapılan çalışmada ise %93’ünün evli, %7’sinin bekar olduğu (Yağlıoğlu, 2013) bildirilmiştir.

Ailede balıkçılık yapan kişi sayısına baktığımızda %68’inde aynı aileden 1 veya 2 kişinin balıkçılık yaptığını belirlenmiş olması yeni neslin balıkçılığa fazla ilgi duymadığını göstermektedir.

Balıkçılığı seçme nedenleri diğer illerde çeşitlilik göstermekle birlikte Hatay ilinin büyük kısmı zorunluluktan bu işi yaptıklarını bildirmiştir. Bu durum bölge insanının balıkçılık dışındaki ticaret alanlarından yeterli kazanç sağlayamadığına işaret etmektedir. İstanbul balıkçıları ile yapılan çalışmada %44,3’ünün işsizlik nedeniyle, %17,3’ünün aile bütçesine katkı amacıyla, %15,’inin hobi olarak, %14,4’ünün baba mesleği olması sebebiyle balıkçılık yaptıkları bildirilmiştir (Doğan, 2010).

Ekonomik durumları irdelendiğinde balıkçılık, yetersiz gelir sağlayan ve ağır şartlar altında çalışılan bir iş alanı olarak bilinmesine rağmen bölgedeki bireylerin %56’sının

balıkçılığı bırakmayı düşünmedikleri, işlerini severek yaptıkları fakat çoğunluğunun çocuklarının bu işi yapmasını istemedikleri tespit edilmiştir.

Av miktarı ve türüne bağlı olarak illere göre değişiklik göstermekle birlikte bireylerin denizden elde ettikleri gelir bakımından memnuniyetleri değerlendirildiğinde bölgenin genelinde balıkçıların yalnızca %1'inin gelirinden hoşnut olduğu belirlenmiştir.

Kooperatifleşme adı altında sosyal üyeliklerini değerlendirdiğimizde, bölgenin %72'sinin kooperatife üye olduğu belirlenirken Doğu Karadeniz Bölgesi'nde bu oran %59'dur. Balıkçıların %84'ünün bürokratik kolaylıklardan faydalanmak amacı ile kooperatif üyeliğini tercih ettiği tespit edilmiştir. Buda bölgedeki balıkçıların çoğunluğunun birlik ve beraberlik içinde hareket ettiğinin, birbirlerine ve mesleklerine sahip çıkmaya çalıştıklarının göstergesidir. Hatay'da ise bu durumun aksi söz konusudur. Kooperatif üyeliği olmayan bireyler çoğunluğu oluşturmaktadır. Yücel (2006), Orta Karadeniz balıkçıları ile yapılan çalışmasında %43'ünün, Ünal vd. (2008), İzmir İli su ürünleri kooperatifi ile yapılan çalışmalarında kooperatife üye balıkçıların %59'unun, Doğan (2010), İstanbul'da yapılan çalışmasında %74,9'unun, Doğan ve Gönülal (2011), Gökçeada balıkçıları ile yaptıkları çalışmada balıkçıların %62,5'inin, Aksoy ve Koç (2012) çalışmalarında %76'sının, Yağlıoğlu (2013)'nun çalışmasında balıkçıların %67'sinin sosyal güvenceye sahip oldukları belirtilmiştir.

Balıkların pazarlamasının genellikle komisyoncular üzerinden yapılması ana kazancın büyük bir kısmının komisyonculara verildiğini işaret etmektedir. Bölgedeki balıkçıların büyük çoğunluğu komisyoncuların haksız kazanç sağladığı görüşünde birleşmişlerdir. Güngör vd. (2007) Tekirdağ İli'nde yaptıkları çalışmalarında balığın %55'inin komisyonculara, %23'ünün konserve fabrikalarına, %12'sinin kooperatif ve birliklere, %9'unun seyyar satıcı ve direkt tüketiciye pazarlandığını, Doğan ve Gönülal (2011), Gökçeada balıkçıları ile yaptıkları çalışmalarında yakalanan balıkların %78'inin kabzımal aracılığıyla, %29,2'sinin perakende olarak satıldığını, Yağlıoğlu (2013), Akçakoca balıkçıları ile yaptığı çalışmasında %93'ünün kabzımal aracılığıyla satış yaptığını, %7'sinin perakende olarak kendisinin sattığını bildirmiştir.

Çalışmamızda bölgedeki balıkçı eşlerinin balıkçılıkla ilgilenmediği tespit edilmiştir. Drewes (1982), Madras (Hindistan) yakınlarında yaptığı çalışmasında kadınların sosyo-ekonomi üzerindeki rolünü incelemiş, üretken organizasyonlara katılımı ve bu organizasyonların kadınlara oluşturduğu başlangıç girdisini değerlendirmiştir.

Balıkçıların pazarlama şekilleri ve karşılaştıkları sorunlar araştırılmış, %79'unun pazarlamayı komisyoncular aracılığıyla, %16'sının kendi olanaklarıyla ve %5'inin kooperatifler aracılığıyla ürünlerini pazarladıkları tespit edilmiştir. Ayrıca %79'u pazarlama yaparken sorun yaşamadığını bildirirken, %21'i pazarlamada fiyat farklılıkları, ürün tazeliği ve rekabet gibi sorunlar yaşadıklarını bildirmişlerdir. Çakır (1988), İzmir'de su ürünlerinin kredilendirilmesi, pazarlama kanalları ve fiyat dalgalanmaları konusunda araştırmalar yapmıştır.

Akdeniz Bölgesi'nde kıyıların daha çok kıyı balıkçılığına elverişli olması nedeni ile bölgedeki balıkçı teknelerinin yalnızca %15'inin gırgır ve trol avcılığı yaptığı belirlenmiştir. Bu oran Doğu Karadeniz Bölgesinde %8'dir. Akdeniz Bölgesi ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde avlanan türler, mevcut stoklar farklılık gösterse de balıkçılık faaliyetlerinde kullanılan tekneler açısından benzerlik göstermektedir. Lalande ve Dube (1990), Quebec (Kanada)'da 1987-1989 yılları arasında yaptıkları çalışmalarında kıyı balıkçılığının 10,6 metreden küçük teknelerinin verimsiz ekonomik performansını incelemişlerdir. Kıyı balıkçılığının o yıllarda sürekli düşme eğilimi gösterdiğini ve bazı

ticari öneme sahip türlerin av miktarlarındaki azalmanın balıkçıların gelirinde %17'lik düşmeye neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Balıkçıların %83'ü balıkçılıktan elde ettikleri gelirin yetersiz olduğunu ve imkan verildiği sürece farklı işler yapmak istediklerini belirtmişlerdir. Chhaya vd. (1991), Hindistan'ın Gujarat eyaleti kıyılarında, trol ve uzatma ağlarıyla küçük ölçekli balıkçılığın ekonomik analizini incelemiş, düşük sermayeye rağmen yüksek net gelir sağladığı ve ekonomik olarak sürdürülebilir nitelikte olduğunu ifade etmişlerdir.

Akdeniz Bölgesi'nde ekolojik koşullar, teknik ekipman ve tecrübeli elemanların yetersizliği sebebiyle daha çok iç sularda yetiştiricilik yapılmaktadır. Balıkçılık yapan bireylerin %93'ünün 30 yaş üstünde olduğu, %66'sının ilkökul mezunu olduğu, %67'sinin sosyal güvencesi olduğu, %78'inin geçimini yalnızca balıkçılıktan sağladığı kalan kısmında balıkçılık dışında farklı ticaret alanlarından gelir sağladıkları, %7'sinin 7 veya daha fazla kişiye bakmakla yükümlü olduğu tespit edilmiştir. Yücel (2006), Orta Karadeniz Bölgesi balıkçılığı ve balıkçıların sosyoekonomik durumunu incelemek amacıyla yaptığı çalışmada, üretim anlamında iç su balıkları avcılığı ve yetiştiriciliğinin ön planda tutulduğunu, teknelerin boylarına göre 5-9,9 m boyundaki teknelerin artış gösterdiğini, nitelikli ürünün sunulabilmesindeki eylemlerin odak noktasını balıkçıların teşkil ettiğini belirlemiştir. Orta Karadeniz Bölgesindeki balıkçıların %51'i 30-50 yaş arasında, %1'inin yüksekokul mezunu olduğunu, %56'sının hiçbir sosyal güvencesi bulunmadığını, %34'ü ikinci iş olarak balıkçılık yaptığını, %54'ünün beş ve daha fazla bireye bakmakla yükümlü olduğunu belirtmiştir. Bunun yanında balıkçıların örgütlenmesinin önemine değinmiş, balıkçı birlikleri veya balıkçı kooperatiflerine sahip çıkılması gerektiğini vurgulamıştır.

Bölgede deniz balıkçılığı yapan teknelerin %77'sinin 12 m'den küçük olduğu, %23'ünün gırgır ve trol avcılığı yaptığı, balıkçıların minimum 6 ay ve maksimum 12 ay balığa çıktıkları, avcılık sürelerinin maksimum 72 saate ulaştığı, ağırlıklı olarak sardalya, kolyoz, barbunya, orkinos ve diğer kabukluların avcılığı yapıldığı tespit edilmiştir. Uzmanoğlu ve Soylu (2006), Karasu (Sakarya) Bölgesi deniz balıkçılarının sosyoekonomik yapısını inceledikleri araştırmalarında, balıkçıların yaş dağılımları, eğitim durumları, medeni durumları, eşlerinin eğitim ve iş durumu, avlanmanın hangi dönemlerde yapıldığı, toplam av günü sayısı, avlanan su ürünleri türleri, balıkçı teknelerinin özellikleri ve kullanılan av araçlarını irdelemişlerdir. Araştırma neticesinde Karasu ilçesinde deniz balıkçılığı yapan 143 adet balıkçı teknesi belirlenmiş olup bunlardan 36 teknenin trol ve gırgır, 107 teknenin ise 11 m den küçük, diğerleri sınıfına ait ruhsata sahip olduklarını ifade etmişlerdir. Çubuk vd. (2007) Eğirdir Gölü'nde yaptıkları çalışmada 1125 balıkçının 484 balıkçı teknesi ile avcılık yaptığını belirtmiştir. Ticari avcılıkta kullanılan teknelerin boylarının 3 ile 9 m arasında dağılım gösterdiğini, balıkçı teknelerinden 18'inin motorsuz olduğu, motorlu teknelerin motor güçlerinin 3 ile 13 HP arasında değiştiğini (298 adedi 10 HP), 15 HP ve üzeri güce sahip motorlu tekne sayısının 9 olduğunu tespit etmişlerdir. Teknelerin %46,3'ünün sac, %40,3'ünün fiberglas kaplama ve %13,4'ünün ahşap olduğu belirtilmiştir. Çalışmada balıkçı teknelerinin boyunun 6,5-22 m, tekne yaşının maksimum 2-45 yıl, avlanma süresinin 30-240 gün arasında olduğu; palamut, lüfer, barbunya, tekir, mezigit, istavrit, kalkan, kefal, tirsi, köpek balığı, vatoz, kum midyesi ve deniz salyangozunun ağırlıklı olarak avlandığı belirlenmiştir. Balıkçıların yaş dağılımlarının 32 ile 76 arasında değişim gösterdiğini, balıkçıların %78'inin ve eşlerinin %84'ünün ilkökul mezunu olduğunu, %98'inin evli olduğunu belirtmişlerdir.

Akdeniz Bölgesi'nde balıkçılık yapan teknelerde ortalama personel sayısı küçük kıyı balıkçılığında 1-2 kişi arasında, gırgır ve trol balıkçılığı yapan teknelerde ise 5-30 kişi arasında değişim göstermektedir. Balıkçıların %67'sinin sosyal güvenceye sahip olduğu, %25'inin baba mesleği olduğu için balıkçılığı seçtiği ve mesleğe çok küçük yaşta başladıkları, baba mesleği olmayanlarında sektöre sonradan girdikleri ve bu işi hobi olarak veya zorunluluktan yaptıkları, %72'sinin kooperatife üye oldukları, çoğunun kooperatif üyeliğini bürokratik kolaylıklar sağladığı, bir kısmının birlik ve beraberlik amacıyla, bir kısmının da pazarlamada fiyat avantajı sağlamak amacıyla kooperatife üye oldukları belirlenmiştir. Akbulut vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, Gümüşhane, Artvin, Rize, Trabzon, Giresun Ordu illeriyle sınırlanan Doğu Karadeniz Bölgesi'nin deniz balıkları avcılığını ve iç su balıkçılığını, deniz balıkçılığı sektörünün yapısal durumunu sosyoekonomik göstergelerini, bölgedeki su ürünleri sektörünün çeşitli faktörlerden kaynaklanan sorunlarını, bölgenin mevcut gücü ve potansiyelini irdelemişlerdir. Tekne başına düşen ortalama personel sayısı küçük kıyı balıkçılığında 1-2 kişi arasında, gırgır balıkçılığı yapan teknelerde ise bu sayının 18-35 kişi arasında değişim gösterdiğini, teknelerde çalışan personelin büyük bir kısmının sosyal güvenlik kuruluşuna kaydının yaptırılmadığını, balıkçılığı baba mesleği olarak devam ettirenlerin büyük bir paya sahip oldukları, birlik beraberlik ve ekonomik yönden avantaj elde etmek amacıyla bölgedeki balıkçıların tamamına yakınının (%98) kooperatif üyesi olduğunu belirlemişlerdir.

Ülkemiz deniz ürünlerinin en düşük payı (%5,9) Akdeniz Bölgesi'nden elde edilmektedir. Bunun nedeni, denizi besleyen akarsuların az olması ve dolayısı ile Akdeniz'in diğer denizlere göre daha az doğal verimliliğe sahip olmasıdır. Karadeniz ve Marmara denizinin aksine biyoçeşitlilik en fazla iken her bir türün popülasyon büyüklüğü ise daha düşüktür.

Bölgenin ve ülke balıkçılığının sorunlarının çözümü için, özellikle pazarlama konusunda kooperatifler desteklenerek güçlendirilmeli ve balıkçıların yeterince örgütlenmesi sağlanmalıdır. Oluşturulacak bir fon çerçevesinde balıkçıların borçlanarak ürünlerini pazarladıkları kabzımallık sisteminin değiştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Kooperatiflerin birlik ve üst birlikler yoluyla diğer ülkelerdeki kooperatifleşme, pazarlama ve katma değer yaratacak yöntemlerle işlenmiş balık üretimine eğilmeleri sağlanmalıdır.

Balıkçıların sorunları ve balıkçılık yönetiminin daha yakından takip edilebilmesi için Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü taşra teşkilatı yapısı güçlendirilerek Balıkçılık Teknolojisi Mühendisleri ve Su Ürünleri Mühendisleri istihdam edilerek küçük balıkçılar daha yakından izlenmeli ve ilgi/güven tesisi sağlanmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Akbulut, B., Kutlu, S., Zengin, M., Aksungur, N., Özkan, B., Baki, H. 2012. TR90 Doğu Karadeniz Bölgesi Su Ürünleri Sektör Raporu. Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü, Trabzon.
- Aksoy, R., Koç, G. 2012. Small-Scala Fisheries and Their Sustainability: Küçük Ölçekli Balıkçılığın Genel Profili: Zonguldak İli Merkez İlçesinde Bir Saha Çalışması. Uluslararası İktisadi ve İdari İncelemeler Dergisi, 8, 87-103.
- Anonim, 2014. <http://www.google.com/earth/> (Erişim tarihi: 08. 03. 2014).
- Chhaya, N.D., Jani, G.M., Amreliya, J.A. 1991. Economic Viability of Trawlers, Gillnetters and Dug-outs with OBM. Fishing Chimes, 11(4), 53-57.
- Çakır, H. 1988. İzmir'de Su Ürünlerinin Pazarlanması ve Tüketimi. Dokuz Eylül Üniv. Deniz Bil. ve Tekn. Enstitüsü, Deniz Bilimleri Anabilim Dalı, Canlı Deniz Kaynakları Programı, İzmir.

- Çubuk, H., Balık, İ., Çınar, Ş., Özkök, R., Tümgelir, L., Küçükpara, R., Erol, K.G., Uysal, R., Yağcı, M. 2007. Eğirdir Gölü Balıkçılığında Son Durum. Ulusal Su Günleri Sempozyumu, Antalya. 182-188p.
- Doğan, K. 2010. İstanbul Su Ürünleri Kooperatifleri Ve Ortaklarının Sosyo- Ekonomik Analizi. Journal of Fisheries Sciences, 4(4), 318.
- Doğan, K., Gönülal, O. 2011. Gökçeada Balık Tüketim Alışkanlığının Belirlenmesi ve Sosyoekonomik Analizi. Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi, 2(5), 57-69.
- Drewes, E. 1982. Three Fishing Villages in Tamil Nadu: A Socio-Economic Study with Special Reference to Role and Status of Women. BOB P/WP/14, GCP/RAS/040/SWE, VI+5 p. (<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/007/ad954e/ad954e00.pdf> )
- Güngör, G., Özen, S., Ş., Güngör, H. 2007. Marmara Denizi Balıkçılığının Sosyoekonomik Yapısı ve Deniz Ürünleri Pazarlaması : Tekirdağ İli Sahil Şeridi Örneği. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 4(3), 311-325.
- Lalande, G., Dube, N. 1990. Economic Analysis of the Quebec Inshore Fishery 1987-1989. Econ. Commer. Analysis Rep. Dep. Fish. Oceans, Canada. No. 68, 26 p.
- Taşdan, K., Çeliker, A., Arısoy, H., Ataseven, Y., Dönmez, D., Gül, U., Demir, A. 2010. Akdeniz Bölgesi'nde Su ürünleri Avcılığı yapan İşletmelerin Sosyoekonomik Analizi. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı Tarımsal Ekonomi ve Araştırma Enstitüsü. TAGEM/HAYSÜD/2009/09/04/01. Ankara. 120 s.
- TÜİK, 2013. Türkiye İstatistik Kurumu, Su Ürünleri İstatistikleri 2012. ISSN 1013-6177, 61 s. ([http://www.tuik.gov.tr/IcerikGetir.do?istab\\_id=52](http://www.tuik.gov.tr/IcerikGetir.do?istab_id=52) )
- Uzmanoğlu, S., Soylu, M. 2006. Karasu (Sakarya) Bölgesi Deniz Balıkçılığının Sosyoekonomik Yapısı. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23(1-3), 515-518.
- Uzmanoğlu, S., Morkoyunlu Yüce, A., Bilgin, F., Soylu, M. 2013. Eğirdir Gölü Balıkçı Profili. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, 9(2), 8-13.
- Ünal, V., Tokaç, A., Tosunoğlu, Z., Akyol, O., Özbilgin, H., Göncüoğlu, H. 2008. İzmir İli Su Ürünleri Kooperatifleri ve Sorunları. Türkiye'nin Kıyı ve Deniz Alanları VII. Ulusal Kongresi, Ankara, Türkiye Kıyıları 08 Kongresi Bildiriler Kitabı 27-30 Mayıs, L. Balas (Editör), s. 377-385.
- Yağlıoğlu, D. 2013. Akçakoca (Batı Karadeniz) Balıkçılığı ve Balıkçıların Sosyoekonomik Analizi. Düzce Üniversitesi Orman Fakültesi Ormancılık Dergisi, 9(1), 35-42.
- Yamane, T. 1962. Mathematics for Economists, Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, NJ.
- Yücel, Ş. 2006. Orta Karadeniz Bölgesi Balıkçılığı ve Balıkçıların Sosyoekonomik Durumu. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23(1-3), 529-532.

## First Report of *Vibrio harveyi* Infection in Diseased Common Dentex (*Dentex dentex*) Cultured in Turkey\*

Emre TURGAY\*\*, Süheyla KARATAŞ

İstanbul University, Faculty of Fisheries, Department of Aquaculture, İstanbul, TURKEY

Geliş : 23.06.2016

Kabul : 28.07.2016

Research Article / Araştırma Makalesi

\*\*Corresponding Author: eturgay@istanbul.edu.tr

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Abstract

In the present work, *Vibrio harveyi* was consistently isolated from diseased common dentex (*Dentex dentex*) cultured in Turkey. The outbreak occurred in July (2013), following the transportation of common dentex juveniles from hatchery to offshore floating cages. Five moribund cultured common dentex individuals, about 20-25 g in weight, were selected from the said floating cages and samples were taken from internal organs including liver, spleen, kidney and eye tissue. A total of eight pure cultures were obtained and identified through basic biochemical characterisation as well as 16S rRNA gene sequencing. To our knowledge, this is the first report of *Vibrio harveyi* infection in cultured common dentex in Turkey.

**Keywords:** Common dentex, *Vibrio harveyi*, 16S

### Türkiye’de Kültürü Yapılan Sinarit Balıklarında (*Dentex dentex*) İlk *Vibrio harveyi* Enfeksiyonu Bildirimi

#### Özet

Bu çalışmada, Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan hasta sinarit balıklarından (*Dentex dentex*) *Vibrio harveyi* izole edilmiştir. Hastalık Temmuz ayında (2013), juvenil sinarit balıkları kuluçkahaneden yüzer kafes sistemlerine transfer edildikten sonra ortaya çıkmıştır. Hasta balıklardan 20-25 g ağırlığındaki 5 birey yüzer kafeslerden seçilmiş ve karaciğer, dalak, böbrek ve göz dokusundan örnekler alınmıştır. Bakteriyolojik kültür sonucunda 8 adet izolat saf olarak elde edilerek biyokimyasal karakterizasyonun yanı sıra 16S rRNA geni dizi analizi ile tanımlanmıştır. Bu çalışma, Türkiye’de kültürü yapılan sinarit balıklarında *Vibrio harveyi* enfeksiyonunun rapor edildiği ilk çalışmadır.

**Anahtar kelimeler:** Sinarit, *Vibrio harveyi*, 16S

**\*This study was supported by the Scientific and Technological Research Council of Turkey (TÜBİTAK) Grant No: 112O917.**

## INTRODUCTION

Due to its high growth rate, ease of reproduction in captivity and favourable adaptation to pellet feeds, the common dentex (*Dentex dentex*, Linnaeus, 1758) is held as a strong candidate among new fish species currently under evaluation for cultivation in Turkey. Common dentex has been marketed at high prices and has already a high commercial value in other Mediterranean countries. The most likely problem that could affect common dentex culture in a negative way, is the high mortality rate seen in the early stage of cultivation, which also has been the case for other cultured marine fish species (Abellán, 2000; Rueda and Martínez, 2001).

Among fish pathogens, *Vibrio harveyi* is a well-known bacterial species causing mortalities in marine aquaculture industry and they have been isolated occasionally from moribund fish and identified as the aetiological agents of disease. To date, *V. harveyi*



infections has been reported in common dentex (*Dentex dentex*) (Company et al., 1999; Pujalte et al., 2003), gilthead sea bream (*Sparus aurata*) (Balebona et al., 1998; Pujalte et al., 2003; Haldar et al., 2010), European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) (Pujalte et al., 2003), farmed sole (*Solea senegalensis*) (Zorrilla et al., 2003), cultured wedge sole (*Dicologlossa cuneata*) (López et al., 2009), cultured brown spotted grouper (*Epinephelus tauvina*) and silvery black porgy (*Acanthopagrus cuvieri*) (Saeed, 1995) and cage-reared grouper (*Epinephelus awoara*) (Qin et al., 2006).

The aim of this study was to identify the causative agent responsible for a disease outbreak in cultured common dentex that occurred in a commercial fish farm located in Aegean Region of Turkey.

## **MATERIALS and METHODS**

The present study was approved by Istanbul University Local Committee on Animal Research Ethics (Decision No: 2012/113).

### **Case History**

The outbreak occurred in July (2013), following transportation of cultured common dentex juveniles from hatchery to floating cages in a commercial fish farm located in Aegean Region of Turkey. Water temperature was 22 °C and salinity was 34‰ at the time of sampling. Overall mortality rate was about 30% according to fish health records of the farm.

### **Isolation of the Causative Agents**

Five moribund cultured common dentex (20-25 g in weight) were selected from offshore floating cages. Samples were taken from internal organs (liver, spleen, kidney and eye tissue) and streaked onto Marine Agar 2216 (Difco) using aseptic techniques. Agar plates were incubated at 22 °C for 48-72 h. After incubation period, single colonies on the primary plates were selected and re-streaked onto the same media to obtain pure cultures.

### **Morphological and Biochemical Characteristics**

Isolated pure cultures were examined using standard protocols for some basic characteristics including colony and cell morphology, Gram staining, oxidase activity, motility, oxidation/fermentation (O/F) reaction, growth and appearance on TCBS agar, susceptibility to vibriostatic agent O/129 (10 µg and 150 µg) (Oxoid) (Whitman, 2004).

### **Genomic DNA Extraction**

The isolates were inoculated into Marine Broth 2216 (Difco) and incubated overnight at 22 °C in a shaking incubator. Genomic DNA was then extracted by the PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen) according to the manufacturer's instructions and used as template for PCR.

### **PCR and 16S rRNA Gene Sequencing**

An approximately 540 bp long fragment of the 16S rRNA gene was amplified using the universal bacteria primer set; primer S-20 (5' AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG 3') and primer A-18 (5' GWA TTA CCG CGG CKG CTG 3') (Suau et al., 1999).

The PCR mixture (50 µl) included approximately 50 ng template DNA (2 µl), 0.4 µM of each primer (2x 2 µl), PCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific) (25 µl) and nuclease-free water (Thermo Scientific) (19 µl). Amplification was performed using a thermal cycler (Biometra, TPersonal) with the following parameters: initial denaturation at 95 °C for 3 min, followed by 30 cycles of amplification (denaturation at 95 °C for 30 s, annealing at 56 °C for 1 min, extension at 72 °C for 1 min) and a final extension step of 72 °C for 4 min.

After amplification, 10 µl of PCR sample was loaded on a 1.5% (wt/vol) agarose gel in TAE containing ethidium bromide (0.5 µg/ml) and electrophoresis was performed (for 40 min at 90 V). PCR products were visualized on a UV transilluminator and size estimated against GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Thermo Scientific).

PCR products were purified and sequenced bidirectionally by BM Labosis (Ankara, Turkey). Sequence editing and analysis was performed in Bioedit v7.0.0 (Hall, 1999) using the ClustalX 2.1 (Larkin et al., 2007) and BLASTN 2.2.20 algorithm (Zhang et al., 2000). A  $\geq 99\%$  similarity criterion in 16S rRNA gene sequence was used for identification of the isolates at the species level (Clarridge, 2004). The 16S rRNA gene sequences were deposited in GenBank database.

## RESULTS

### Clinical Signs

Hemorrhaging, especially on the ventral side of the body, scale rots on the skin surface along with skin depigmentation, pale gills and corneal opacity were common findings of all sampled fish. In some individuals hemorrhaging were also observed in the opercular region, at the base of the fins and around the vent. Some individuals had also erosions on the tail and the cranial region. Internal examination revealed that the intestine was swollen containing yellowish fluid and the abdominal cavity was distended due to ascitic fluid. The liver was hyperaemic and the spleen was swollen in all affected fish (Figure 1, 2, 3, 4).



**Figure 1.** Hemorrhaging in the opercular region and at the base of the fins



**Figure 2.** Hemorrhaging on the ventral side of the body



**Figure 3.** Erosion on the cranial region



**Figure 4.** Swollen spleen and the intestine containing yellowish fluid

## Morphological and Basic Characteristics of the Isolated Bacteria

From the five fish samples, a total of eight pure cultures were obtained and processed for 16S rRNA gene sequencing. Some morphological and basic characteristics of the isolates are given in Table 1.

**Table 1.** Morphological and basic characteristics and originated tissues of the isolates

Isolate	Gram	Motility	Oxidase	O/F	TCBS agar	O/129 (10 µg-150 µg)	Organ
IUET-AK01	-	+	+	F	Yellow	R-S	Eye
IUET-AK05	-	+	+	F	Yellow	R-S	Spleen
IUET-AK07	-	+	+	F	Yellow	R-S	Gill
IUET-AK08	-	+	+	F	Yellow	R-S	Spleen
IUET-AK09	-	+	+	F	Yellow	R-S	Spleen
IUET-AK14	-	+	+	F	Yellow	R-S	Kidney
IUET-AK19	-	+	+	F	Yellow	R-S	Kidney
IUET-AK20	-	+	+	F	Yellow	R-S	Liver

Key: -: Negative, +: Positive, F: Fermentative, R: Resistant, S: Sensitive

All isolates showed the same characteristics including being cytochrome oxidase positive, fermentative, resistant to vibriostatic agent O/129 at 10 µg and sensitive at 150 µg and observed as Gram negative, curved-rod shaped, motile bacterial cells under light microscopy, while visually appearing as white shiny colonies on Marine Agar and yellow colored colonies on TCBS agar.

## 16S rRNA Gene Sequencing Results

According to 16S rRNA gene sequence analysis, all isolates (IUET-AK01, IUET-AK05, IUET-AK07, IUET-AK08, IUET-AK09, IUET-AK14, IUET-AK19, IUET-AK20) were identified as *V. harveyi* (Table 2).

**Table 2.** Bacterial species identified by 16S rRNA gene sequence analysis

Isolate	Species name	Similarity (%)	Accession no.
IUET-AK01	<i>Vibrio harveyi</i>	99.8	KJ158253
IUET-AK05	<i>Vibrio harveyi</i>	99.4	KJ158254
IUET-AK07	<i>Vibrio harveyi</i>	99.6	KJ158255
IUET-AK08	<i>Vibrio harveyi</i>	99.6	KJ158256
IUET-AK09	<i>Vibrio harveyi</i>	99.0	KJ158257
IUET-AK14	<i>Vibrio harveyi</i>	99.8	KJ158258
IUET-AK19	<i>Vibrio harveyi</i>	99.8	KJ158259
IUET-AK20	<i>Vibrio harveyi</i>	99.8	KJ158260

## DISCUSSION

*V. harveyi* is a well-known pathogen of both invertebrates and vertebrates and infections in fish by this bacterium have been reported from both wild and cultured

species (Austin and Zhang, 2006). Eye lesions have been reported as a common clinical finding in several disease outbreaks, affecting common dentex (*D. dentex*) (Company et al., 1999), gilthead sea bream (*Sparus aurata*) (Haldar et al., 2010), milkfish (*Chanos chanos*) (Ishimaru and Muroga, 1997), common snook (*Centropomus undecimalis*) (Kraxberger-Beatty et al., 1990) and short sunfish (*Mola mola*) (Hispano et al., 1997). In accordance with these reports, all individuals had corneal opacities in our examination. In addition to eye lesions, our findings such as pale gills, abdominal swelling due to ascitic fluid, hemorrhaging in the liver and at the base of the fins as well as skin lesions are similar to a previous report of *V. harveyi* dominated infections in cultured common dentex (Company et al., 1999). We also observed that the spleen was enlarged while the intestine was swollen containing yellowish fluid in all affected fish and that some individuals had erosions in the cranial region.

The reported disease outbreak occurred during the first summer following transportation juveniles from hatchery to floating cages. Likewise, Company et al., (1999) indicated that in a two-year survey, the highest mortality rates in common dentex culture occurred at the end of the first summer, after their transport from the hatchery. The same authors also mentioned that the peak of mortalities coincided with high water temperatures.

High mortality rates occurring in the early stages of the rearing caused by bacterial diseases is one of the most important reasons for economic losses during the production period. In order to reduce such losses, it is needed to identify the pathogenic bacterial agents responsible for the mortality. Common dentex is highly sensitive to handling and other stress-inducing factors so stress-related high mortalities may be expected in common dentex culture (Tibaldi et al., 1996; Sodimou and Alexis, 1998).

In this work, *Vibrio harveyi* was isolated and identified from diseased cultured common dentex. To our knowledge this is the first report of *V. harveyi* infection in cultured common dentex in Turkey.

## REFERENCES

- Abellán, E. 2000. Culture of Common Dentex (*Dentex dentex* L.): Present Knowledge, Problems and Perspectives. Cah Options Mediterr 47, 157-168.
- Austin, B., Zhang, X.H. 2006. *Vibrio harveyi*: A Significant Pathogen of Marine Vertebrates and Invertebrates. Lett Appl Microbiol, 43, 119-124.
- Balebona, M.C., Zorrilla, I., Moriñigo, M.A., Borrego, J.J. 1998. Survey of Bacterial Pathologies Affecting Farmed Gilt-Head Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Southwestern Spain from 1990 to 1996. Aquaculture, 166, 19-35.
- Clarridge, J.E. 2004. Impact of 16S rRNA Gene Sequence Analysis for Identification of Bacteria on Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Clin Microbiol Rev., 17, 840-862.
- Company, R., Sitj, A., Pujalte, M., Garay, E., Alvarez - Pellitero, P. 1999. Bacterial and Parasitic Pathogens in Cultured Common Dentex, *Dentex dentex* L. Journal of Fish Diseases 22, 299-309.
- Haldar, S., Maharajan, A., Chatterjee, S., Hunter, S., Chowdhury, N., Hinenoya, A., Asakura, M., Yamasaki, S. 2010. Identification of *Vibrio harveyi* as a Causative Bacterium for a Tail Rot Disease of Sea Bream *Sparus aurata* from Research Hatchery in Malta. Microbiological Research 165, 639-648.
- Hall, T.A. 1999. BioEdit: A User-Friendly Biological Sequence Alignment Editor And Analysis Program for Windows 95/98/NT. Proc. Nucleic Acids Symposium Series, 95-98.
- Hispano, C., Nebra, Y., Blanch, A.R. 1997. Isolation of *Vibrio harveyi* from an Ocular Lesion in the Short Sunfish (*Mola mola*). B Eur Assoc Fish Pat.

- Ishimaru, K., Muroga, K. 1997. Taxonomical Re-Examination of Two Pathogenic *Vibrio* Species Isolated from Milkfish and Swimming Crab. *Fish Pathol*, 32, 59-64.
- Kraxberger - Beatty, T., McGarey, D., Grier, H., Lim, D. 1990. *Vibrio harveyi*, an Opportunistic Pathogen of Common Snook, *Centropomus undecimalis* (Bloch), Held in Captivity. *J Fish Dis.*, 13, 557-560.
- Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N., Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M., Wilm, A., Lopez, R. 2007. Clustal W and Clustal X Version 2.0. *Bioinformatics* 23, 2947-2948.
- López, J.R., De la Roca, E., Núñez, S., De la Herran, R., Navas, J.I., Manchado, M., Herrera, M., Toranzo, A.E. 2009. Identification of *Vibrio harveyi* Isolated from Diseased Cultured Wedge Sole *Dicologlossa cuneata*. *Dis Aquat Organ*, 84, 209-217.
- Pujalte, M., Sitja-Bobadilla, A., Macián, M., Belloch, C., Alvarez-Pellitero, P., Perez-Sanchez, J., Uruburu, F., Garay, E. 2003. Virulence and Molecular Typing of *Vibrio harveyi* Strains Isolated from Cultured Dentex, Gilthead Sea Bream and European Sea Bass. *Syst Appl Microbiol.*, 26, 284-292.
- Qin, Y., Wang, J., Su, Y., Wang, D., Chen, X. 2006. Studies on the Pathogenic Bacterium of Ulcer Disease in *Epinephelus awoara*. *Acta Oceanol. Sin.*, 25.
- Rueda, F., Martínez, F. 2001. A Review on the Biology and Potential Aquaculture of *Dentex dentex*. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 11, 57-70.
- Saeed, M. 1995. Association of *Vibrio harveyi* with Mortalities in Cultured Marine Fish in Kuwait. *Aquaculture*, 136, 21-29.
- Sodimou, A.A., Alexis, M. 1998. Stress-Related Pathology Seems a Significant Obstacle for the Intensive Farming of Common Dentex, *Dentex dentex* (Linnaeus 1758). *B. Eur. Assoc. Fish Pat.*, 18, 15.
- Suau, A., Bonnet, R., Sutren, M., Godon, J.-J., Gibson, G.R., Collins, M.D., Doré, J. 1999. Direct Analysis of Genes Encoding 16S rRNA from Complex Communities Reveals Many Novel Molecular Species Within the Human Gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 4799-4807.
- Tibaldi, E., Beraldo, P., Volpelli, L., Pinoso, M. 1996. Growth Response of Juvenile Dentex (*Dentex dentex* L.) to Varying Protein Level and Protein to Lipid Ratio in Practical Diets. *Aquaculture*, 139, 91-99.
- Whitman, K.A. 2004. *Finfish and Shellfish Bacteriology Manual: Techniques and Procedures*. Ames, USA: Iowa State Press.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W. 2000. A Greedy Algorithm for Aligning DNA Sequences. *Journal of Computational Biology*, 7, 203-214.
- Zorrilla, I., Arijo, S., Chabrillon, M., Diaz, P., Martinez - Manzanares, E., Balebona, M., Morinigo, M. 2003. *Vibrio* Species Isolated from Diseased Farmed Sole, *Solea senegalensis* (Kaup), and Evaluation of the Potential Virulence Role of Their Extracellular Products. *J. Fish Dis.* 26, 103-108.

## S.D.Ü. EĞİRDİR SU ÜRÜNLERİ FAKÜLTESİ DERGİSİ YAZIM KURALLARI

Dergide su ürünleri alanında yapılmış orijinal araştırmalar, araştırma notu, kısa araştırma ve derleme nitelikli eserler yayınlanır. Dergide yayınlanacak eserin daha önce hiçbir yayın organında yayınlanmamış ya da yayın hakkının verilmemiş olması gerekir. Eserin tüm sorumluluğu yazarına(/larına) aittir. Dergi editörü eserlerin teknik içerik ve baskı hatalarından sorumlu değildir. Basılmış olan eserlere telif ücreti ödenmez.

Eserler, Türkçe veya İngilizce dillerinden herhangi biri ile aşağıda verilen yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmalıdır.

Sayfa A4 kağıt boyutunda, Windows Microsoft Word programında, her kenardan 2,5 cm boşluk bırakılarak, iki aralıklı yazılmalı, sayfalar numaralandırılmamalı, başlık sayfası (eserin adı, yazar(/lar)ın unvanlı isimleri, açık adresleri ve iletişim bilgileri), şekil ve tablo sayfaları da metindeki sırasına göre, 25 sayfayı geçmeyecek şekilde, Times New Roman, 12 punto olarak hazırlanmalı ve <http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/esufd> dergi web adresine yazar olarak kayıt yapıldıktan sonra elektronik olarak başvuru işlemi tamamlanmalıdır. Elektronik başvuru işlemi tamamlandıktan sonra “Telif Hakkı Devir Sözleşmesi” tüm yazarlara imzalatılmalı ve önce taranan bir nüshası [esufdergi@sdu.edu.tr](mailto:esufdergi@sdu.edu.tr) e-posta adresine, yayına kabul edildikten sonra ise orijinal imzalı bir nüshası iletişim adresine (Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi, Yayın Komisyonu Başkanlığı, 32260 Doğu Yerleşkesi - ISPARTA) posta ile gönderilmelidir.

Yayınlanmak üzere gönderilen makalelerin dergide yayınlanabilmesi için Yayın Kurulunca bilimsel içerik ve şekil bakımından uygun görülmesi ve hakemler tarafından kabul edilmesi gerekir. Yayın Kurulu tarafından yayınlanması uygun bulunmayan eserler yazar (ına/larına) iade edilmez.

**Başlık;** Yazıldığı dilde sadece ilk harfler büyük ve koyu renkte olmalı, başlığı özet takip etmelidir.

**Özet;** Eserin yazıldığı dilde 300 kelimeyi geçmeyecek şekilde ifade edilmelidir. Eser Türkçe yazılmış ise İngilizce başlık ve özet, eser İngilizce yazılmış ise Türkçe başlık ve özet yer almalıdır.

**Anahtar Kelimeler;** Her iki dilde de anahtar kelime 3-7 arasında olmalıdır.

**Metin;** Makale giriş, materyal ve metot, bulgular, tartışma ve sonuç, teşekkür (gerekliyse) ve kaynaklardan oluşmalıdır. Araştırma notu ve derleme gibi eserlerde bu formata uyulmayabilir. Bilimsel cins ve tür isimleri italik yazılmalı, tür isimlerinde alana özgü uluslararası sistematik isimlendirme kurallarına uyulmalıdır.

**Dipnot;** Yapılan çalışma bir kurum/kuruluş tarafından desteklenmiş ya da doktora/yüksek lisans tezinden hazırlanmış ise ilk sayfanın altında dipnot olarak belirtilmelidir.

**Kaynaklar;** (Metin içerisindeki atıflar yazar (yıl) şeklinde yapılmalı, üç ya da daha fazla yazarın kaynağı ifade edilmek istenirse ve ark./ et al. kısaltması kullanılmalı, kaynaklar listesi ilk yazarın soyadına göre alfabetik olarak düzenlenmelidir. Yararlanılan kaynak makale ise; sırayla yazarın soyadı, adının ilk harfi, yıl, makalenin adı, derginin adı, cilt sayısı, sayfa numaraları; kitap ise yazarın soyadı, adının baş harfi, yıl, kitabın adı, basım evi, basım yeri; kitaptan bir bölüm ise; yazarının soyadı ile adının ilk harfi, yıl, kitabın adı, basımevi, basım yeri ve sayfa numaraları şeklinde; tez ise; yazarın soyadı, adının baş harfi, yıl, tezin adı, tezin niteliği, üniversite, şehir; yazarı bilinmeyen bir kaynaksa; Anonim, yıl, adı, yayınlayan, yayınlandığı yer, ilgili sayfa numaraları şeklinde

verilmelidir. Metin içerisinde değinilen bütün kaynaklar, makalenin sonundaki Kaynaklar bölümünde aşağıdaki örneklere uygun olarak yazılmalıdır.

### **Makaleler**

Diler, A., Ataş, ř. 2003. Antalya Bölgesinden avlanan *Penaeus semisulcatus* De Haan 1884'un mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesi ile et verimi. Turk J. Vet. Anim. Sci., 27:497-503.

### **Kitaplar**

İnal, T. 1992. Besin Hijyeni, Hayvansal Gıdaların Sağlık Kontrolü. II. Baskı, Final Ofset A.ř., İstanbul.

### **Kitaptan bir bölüm**

Fieger, E.A., Novak, A.F. 1961. Microbiology of shellfish deterioration. In: Fish as Food Vol. 1 Production, Biochemistry and Microbiology (chapter 15), Borgstrom, G. (Ed.), Academic Press, New York, 561-611.

### **Tezler**

Altun, S. 1996. Yersinia ruckeri ile infekte gökkuşağı alabalıklarının (Oncorhynchus mykiss) hematolojik incelemesi. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.

**Tablo ve şekiller;** ayrı ayrı sayfalarda verilmeli, tablolarda dikey çizgiler kullanılmamalı, şekiller ve resimler siyah-beyaz JPEG formatında hazırlanmalıdır.

\* Dergi aboneli olmayan yazarlardan basım giderleri talep edilir.

\* Başvuru işlemini <http://edergi.sdu.edu.tr/index.php/esufd> dergi web adresine yazar olarak kayıt yapıldıktan sonra elektronik olarak yapılmalıdır.



**S.D.Ü. EĞİRDİR SU ÜRÜNLERİ FAKÜLTESİ DERGİSİ**  
**TELİF HAKKI DEVRİ**

Biz aşağıda imzaları bulunan; (Yazarların adı-soyadı).....  
.....  
.....  
tarafından yazılmış, (Makalenin başlığı).....  
.....  
.....

başlıklı makale konusunda; S.D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi'nin  
metin ulaşıncaya kadar hiçbir sorumluluk taşımadığını kabul ederiz.  
Yayınlanmak üzere sunduğumuz makalenin; orijinal olduğunu, daha önce  
yayınlanmadığını ve bir başka dergiye yayınlanmak üzere verilmediğini,  
yayınlanabilmesi için gerekli her türlü iznin alındığını ve orijinal telif hakkı  
formu ile birlikte S.D.Ü. Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi'ne gönderildiğini  
garanti ederiz.

Makalenin telif hakkından feragat etmeyi kabul ederek sorumluluğu üstlenir  
imza ederiz. Bu vesileyle makalenin telif hakkı Süleyman Demirel Üniversitesi  
Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi'ne devredilmiş ve makalenin  
yayınlanabilmesi konusunda yetkili kılınmıştır. Bununla birlikte yazarların  
aşağıdaki hakları saklı olup, ancak bu durumlarda makalenin Süleyman Demirel  
Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi tarafından yayımlandığı  
referans olarak verilmelidir.

- Telif hakkı dışında kalan patent vb. bütün tescil edilmiş haklar,
- Yazarın/yazarların gelecekteki kitaplar ve dersler gibi çalışmalarında  
makalenin tümü ya da bir bölümünü ücret ödemeksizin kullanma hakkı ve,
- Makaleyi satmamak koşulu ile kendi amaçları için çoğaltma hakkı,

Bütün yazarlar tarafından imzalanmak üzere:

Adı-Soyadı	Tarih	İmza

**Birincil İletişim Yazarı Yazışma Adresi:**

**Tel :**  
**Cep.Tel.:**  
**e-posta :**

**Not:** Lütfen formu doldurduktan sonra elektronik başvuru aşamasında taranan bir nüshasını  
[esufdergi@sdu.edu.tr](mailto:esufdergi@sdu.edu.tr) e-posta adresine, yayına kabul edildikten sonra ise orijinal imzalı bir  
nüshasını iletişim adresine posta ile gönderiniz.