

**J Aquacult Eng Fish Res**

**Vol. 2 Issue 4 2016**

**E-ISSN 2149-0236**

**Journal of  
Aquaculture Engineering  
and  
Fisheries Research**



**ScientificWebJournals  
(SWJ)**

# Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E- ISSN 2149-0236

Journal abbreviation: **J Aquacult Eng Fish Res**

© 2015-2016 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

is published in one volume of four issues per year by

[www.ScientificWebJournals.com](http://www.ScientificWebJournals.com)

Contact e-mail: [jaefr@scientificwebjournals.com](mailto:jaefr@scientificwebjournals.com) and [ozkanozden@scientificwebjournals.com](mailto:ozkanozden@scientificwebjournals.com)

## Aims and Scope

“**Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research**” publishes peer-reviewed articles that cover all aspects of Aquaculture and Fisheries research in the form of review articles, original articles, and short communications. Peer-reviewed (**with two blind reviewers**) open access journal published quarterly articles in **English or Turkish** language.

General topics for publication include, but are not limited to the following fields:

Aquaculture Science/Aquaculture Diseases/Feeds/Genetics/

Ecological Interactions/Sustainable Systems/Fisheries Development

Fisheries Science/Fishery Hydrography

Aquatic Ecosystem/Fisheries Managment

Fishery Biology/Wild Fisheries/Ocean Fisheries

Biology/Taxonomy

Stock Identification/Functional Morphology

Freshwater, Brackish and Marine Environment

## Chief editor:

Prof. Dr. Özkan ÖZDEN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

## Co-editors in chief:

Asist. Prof. Dr. Ferhat ÇAĞILTAY

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

Asist. Prof. Dr. Deniz Devrim TOSUN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

## Cover photo:

Prof. Dr. Nuray ERKAN

Istanbul University, Faculty of Fisheries, Turkey

## **Editorial board:**

Prof. Dr. Mamcarz ANDRZEJ

University of Warmia & Mazury, Faculty of Environmental Sciences, Poland

Prof. Dr. Bela H. BUCK

Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research, Germany

Prof. Dr. Nihar Ranjan CHATTOPADHYAY

West Bengal University of Animal & Fishery Sciences, Faculty of Fishery Sciences, India

Prof. Dr. Frerk FELDHUSEN

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Rostock, Germany

Prof. Dr. Mohd Salleh Bin KAMARUDIN

University of Putra, Faculty of Agriculture, Department of Aquaculture, Malaysia

Prof. Dr. Masashi MAITA

Tokyo University of Marine Science & Technology, Applied Biosciences, Japan

Prof. Dr. Saleem MUSTAFA

University of Malaysia Sabah, Borneo Marine Research Institute, Malaysia

Prof. Dr. Predrag SIMONOVIĆ

University of Belgrade, Faculty of Biology, Institute of Zoology, Serbia

Prof. Dr. Yordan STAYKOV

University of Trakia, Agricultural Faculty, Bulgaria

Prof. Dr. Davut TURAN

Recep Tayyip Erdoğan University, Faculty of Fisheries, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Yıldız BOLAT

University of Süleyman Demirel, Eğirdir Fisheries Faculty, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Ioannis S. BOZIARIS

University of Thessaly, School of Agricultural Sciences, Department of Ichthyology and Aquatic Environment, Greece

Assoc. Prof. Dr. Şeref KORKMAZ

Ankara University, Faculty of Agriculture, Department of Fisheries and Aquaculture Engineering, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Lyudmila NIKOLOVA

Agricultural University – Plovdiv, Faculty of Agronomy, Department of Animal Sciences, Bulgaria

Assoc. Prof. Dr. Ertan Emek ONUK

University of Ondokuz Mayıs, Faculty of Veterinary Medicine, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Cui ZHENG GUO

Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, China

Dr. Yannis P. KOTZAMANIS

Hellenic Centre for Marine Research, Institute of Marine Biology, Biotechnology and Aquaculture, Greece

Dr. Ricardas PASKAUSKAS

Institute of Botany, Nature Research Centre, Lithuania

**Journal of  
Aquaculture Engineering and Fisheries Research  
E- ISSN 2149-0236**

Journal abbreviation: **J Aquacult Eng Fish Res**

© 2015-2016 ScientificWebJournals (SWJ)  
All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

**Vol. 2 Issue 4 Page 159-216**

**Table of Contents/İçerik**

-----  
**AKIM SİTOMETRİ VE SU ÜRÜNLERİ UYGULAMALARI**

(Flow Cytometry and its Applications in Aquatic Sciences)

**Metin Yazıcı, Remziye Eda Yardımcı**

pp. 159-175

**DOI: 10.3153/JAEFR16018**

-----  
**BEHAVIORAL AND PHYSIOLOGICAL STRESS RESPONSES OF Java  
barb (*Barbonymus gonionotus*) TO ENVIRONMENTAL SALINITY  
CHALLENGE**

Fahima Binte Amin, Tania Farhana, Golam Mohammad Mostakim, Md.  
Mahiuddin Zahangir, **Mahbuba Monir Mishu, M. Sadiqul Islam**

pp. 176-184

**DOI: 10.3153/JAEFR16019**

-----

-----  
**A PRELIMINARY HISTOLOGICAL STUDY ON OVARIUM DEVELOPMENT IN MIRROR CARP AND SCALED CARP (*Cyprinus carpio* L., 1758) INTRODUCED INTO GELINGÜLLÜ RESERVOIR, TURKEY**

Belda Erkmen, Şerife Gülsün Kırankaya

pp. 185-192

**DOI: 10.3153/JAEFR16020**

-----

**A REVIEW OF SMART FISH FARMING SYSTEM**

Faizan Hasan Mustafa, Awangku Hassanal Bahar Pengiran Bagul, Shigeharu Senoo, Rossita Shapawi

pp. 193-200

**DOI: 10.3153/JAEFR16021**

-----

**NORTHWARDS RANGE EXPANSION OF *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758) IN THE TURKISH AEGEAN SEA**

Sercan Yapıcı, Halit Filiz, Gökçen Bilge

pp. 201-207

**DOI: 10.3153/JAEFR16022**

-----

**ENDÜSTRİYEL BALIKÇI TEKNELERİNİN SOSYO-EKONOMİK GÖSTERGELERİ: SİNOP İLİ ÖRNEĞİ**

(Socioeconomic Indicators of Industrial Fishing Vessels: A Case Study of Sinop Province)

Ahmet Şeref Korkmaz, Tolga Coşkun

pp. 208-216

**DOI: 10.3153/JAEFR16023**

-----

# Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

REVIEW ARTICLE

DERLEME MAKALESİ

## AKIM SİTOMETRİ VE SU ÜRÜNLERİ UYGULAMALARI

**Metin YAZICI<sup>1</sup>, Remziye Eda YARDIMCI<sup>2</sup>**<sup>1</sup>İskenderun Teknik Üniversitesi, Dört Yol Meslek Yüksek Okulu, Hatay<sup>2</sup>İstanbul Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Laleli-İstanbul**Received:** 30.06.2015**Accepted:** 20.11.2015**Published online:** 21.06.2016**Corresponding author:****Metin YAZICI**, İskenderun Teknik Üniversitesi, Dört Yol Meslek Yüksek Okulu, Hatay**E-mail:** [metin.yazici@iste.edu.tr](mailto:metin.yazici@iste.edu.tr)**Öz:**

Akım sitometri (AS), 0.2–150 µm büyüklüğündeki partiküllerin genellikle de hücrelerin tek tek, bir ışık demetinin önünden, bir sıvı içinde geçerken, anlık olarak ölçümlerini yapan daha sonra da çoklu fiziksel özelliklerini analiz eden bir teknolojidir. Akım sitometri, hücre biyolojisini birçok açıdan araştırmak ve istenilen hücreleri izole etmek için kullanılır. Akım sitometri çok sayıda tek hücrenin birçok karakteristiklerini hızlı bir şekilde ölçtüğünden hücre tabanlı analizde altın standart olarak kabul edilmiştir. Diğer tekniklerle karşılaştırıldığında, Akım sitometri'nin hızlı veri eldesini ve çok parametrelili analizi kolaylaştırması popüleritesinin artmasına ve uygulama alanlarının genişlemesine yol açmıştır. Bu derlemede, Akım sitometri'nin su ürünleri alanındaki mevcut durumu ve uygulamaları hakkında özet bir şekilde bilgi verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Akım Sitometri, Balıklarda fagositik aktivite, Hücre tabanlı analiz, Akuatik toksikoloji, Plankton, Hemosit

**Abstract:****Flow Cytometry and its Applications in Aquatic Sciences**

Flow cytometry (FCM) is a technology that simultaneously measures and then analyzes multiple physical characteristics of 0.2–150 µm sized particles, usually cells, as they flow one by one in a fluid stream through a beam of light. Flow cytometry is used for investigating many aspects of cell biology and for isolating the cells desired. Since Flow cytometry measures the multiple characteristics of large numbers of individual cells rapidly, it has been accepted as the gold Standard in cell based analysis. Since Flow cytometry facilitates rapid data acquisition and eases multiparameter analysis, leading to increased popularity and widespread applications as compared to other analyzing techniques. In this review, the current status and utilization of Flow cytometry in aquatic sciences are briefly presented.

**Keywords:** Flow Cytometry, Phagocytic activity of fish, Cell-based analysis, Aquatic toxicology, Plankton, Haemocyte



## Giriş

Akım sitometri (AS), süspansiyon halindeki hücrelerin veya partiküllerin belli bir hızda, sıvı bir sistem içerisinde, bir ışık kaynağının önünden tek tek geçerken farklı özelliklerine göre tanımlandığı bir sistemdir (Shapiro, 2003; Özdemir ve Artaç, 2013). Analiz için hücrelerin veya partiküllerin içinden tek sıra halinde geçtiği boru çapıyla bağlantılı olarak 0.2–150 µm büyüklüğünde partiküller veya hücreler uygundur. Katı dokulardan alınan hücre örnekleri analiz edilecekleri zaman süspansiyon hâle getirilmelidir (BD Biosciences, 2000).

AS her bir hücrenin birçok fiziksel ve kimyasal karakteristiğinin anlık olarak ölçülüp daha sonra analiz edilebildiği bir uygulamadır. Ölçülebilen özellikleri; hücrelerin ya da partiküllerin büyüklükleri, granüllük durumu ya da hücre içi kompleksliği ve florasan yoğunluğudur (BD Biosciences, 2000). Hücrelerin sayımı ve analizinde mikroskopik yöntemlere göre tek hücre seviyesinde, daha hızlı ve doğru sonuçlar elde edilmesi, karışık popülasyonlar içerisinde her bir hücrenin ayrı ayrı özelliklerin tespitine ve analizine imkân sağlamasından dolayı geleneksel yöntemlerin alternatifi olmuştur (Manti ve diğ., 2015).

AS hücrelerin sayımında, incelenmesinde ve sınıflandırılmasında kullanılan gelişmiş bir teknolojidir. AS'deki gelişmeler monoklonal antikör teknolojisindeki gelişmelerle paralellik gösterir (Shapiro, 2003). Ayrıca araştırmacılara ve klinisyenlere 3 önemli özellik sunar. Birincisi AS popülasyondaki her bir hücreyi ayrı ayrı analiz eder. Bu şekilde popülasyonda çok az miktarda bulunan hücrelerin incelenmesi mümkün olur. İkinci olarak olağanüstü derecede hızlıdır. Rutin örnek analizlerinde 100.000 hücre/sn. analiz edilip sayılabilir. Son olarak AS bir hücrenin birçok özelliğini anlık olarak ölçme kapasitesine sahiptir. Çoklu parametrelerin bir araya getirilmesi araştırmacılara bir hücre düzeyinde daha öncekinden hızlı bir şekilde veri elde edilmesini sağlar. Bu kapasitelerinden dolayı AS araştırmacılar ve klinisyenler için çoklu uygulamalarda kullandıkları güçlü bir araç olmuştur (BD Flow Cytometry, 2008).

Biyolojik partiküller florokrom olarak adlandırılan bir veya daha fazla florasan boya ile boyandıklarında hücrenin metabolik aktivitesi, DNA

içeriği, yüzey ve hücre içi işaretleyicileri hakkında ilave bilgiler sağlanır (Flow cytometry, 2006).

Modern AS'nin başlangıcı Fulwyler'in Coulter prensibini kullanarak hücre büyüklüklerine göre vede hücrelere elektrik yüklemeleri yaparak hücre sınıflandırıcısı geliştirmesiyle olmuştur. Daha sonra aynı anda çok parametrelili ölçümler yapabilen AS'ler geliştirilmiştir. 1970'li yılların ortalarında ticari olarak kullanılmaya başlanmıştır (Flow Cytometry, 2006). İlk olarak tıp alanında hematolojik çalışmalarda, kan hücrelerinin sayımında kullanılmıştır. AS hematolojide birçok farklı alanda kullanılmasının yanı sıra pek çok klinik uygulama ve araştırma alanında da kullanılmaktadır. Özellikle moleküler yöntemlerle kombine edilerek organ nakil üniteleri ve araştırma laboratuvarları ile mikrobiyoloji, patoloji, histoloji, biyokimya gibi klinik laboratuvarlarda da kullanılan önemli bir araştırma yöntemi olmuştur (BD Flow Cytometry, 2008).

AS'nin eşsiz gücü; her bir hücreyi anlık olarak bir çok parametreyle hızlı ve kantitatif olarak ölçüm yapabilmesi ve daha sonra istenen hücrelerin izole edilebilmesidir (Melamed, 2001). İlaveten, nadir popülasyonlarda ve stem hücreler, dentritik hücreler, antijen spesifik T hücreler ve genetik transfektanlar gibi hücreleri tespit etmede duyarlıdır (Flow Cytometry, 2006).

AS bağışıklık sistemi hücrelerinin metabolik aktivitesini izlemek için hem memelilerde hemde balıklarda önemli bir potansiyel sunmuştur (Stosik ve diğ., 2002). Moleküler etkileşimler, protein yapısı ve DNA dizilimleri hakkında bilgi sağlanabilmektedir. Safılık oranı %99'dan daha fazladır. Bu sınıflandırılmış partiküller daha sonraki çalışmalar için kullanılabilir.

AS çeşitli bilim dallarındaki insanların kullanabileceği karmaşık bir yapıdır. İmmunologlar, ekologlar, araştırmacı veya klinik laboratuvarında çalışanlar, birçok farklı uygulama için kullanılabilir. Bugün su ürünlerinde, bağışıklık çalışmalarında, antibiyotik duyarlılık çalışmalarında, ilaç, immunostimulant ve aşı etkinliğini ölçmede rutin olarak kullanılan bir yöntem olmuştur (Yentsch ve diğ., 1983; Wang ve diğ., 2010). Sonuç olarak AS uygulamaları her geçen gün boya kimyasında, elektronik ve bilgisayar teknolojisindeki ilerlemelere ve farklı analizler için monoklonal antikör üretimine bağlı olarak sürekli gelişme göstermek-

tedir. Hücre tabanlı analiz yapan hiçbir teknoloji bu kadar hızlı bir şekilde gelişmemiştir. AS endüstrisini geliştirme çabaları arasında otomasyon ve laboratuvar entegrasyonu yapılarak daha geniş alanlarda kullanımı da hedeflenmektedir (Melamed, 2001).

Bu derlemede AS'nin genel kullanımı ve çalışma prensibi kısaca özetlendikten sonra su ürünlerindeki AS'nin kullanım alanlarından, triploid çalışmalarını, planktonik organizmaların tanımlanması ve popülasyon yapılarının tespit edilmesi, balıklarda ve diğer akuatik organizmalarda bağışıklık sisteminin çeşitli etkenlere verdiği yanıtın incelenmesi, akuatik mikroorganizmaların tespiti ve sayılması gibi bir çok farklı alanlarda yapılan çalışmalar hakkında bilgi verilip, dünyada sürekli artan kullanımının ülkemizde de başta su ürünleri sektörü olmak üzere yaygınlaştırılmasına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

### AS'nin Çalışma Prensibi

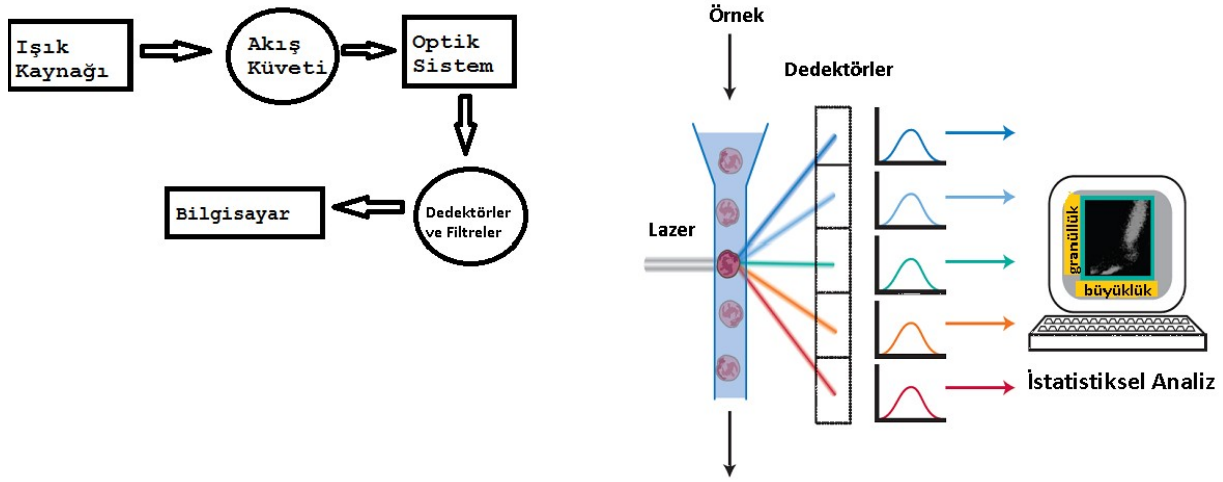
Süspansiyon halinde hazırlanan ve floresan ile boyanan hücreler tek sıra halinde akış kanalından geçerken lazer ışığı ile karşılaşır (Melamed, 2001). Her bir hücre yada partikül lazer ışığının önünden geçerken ışık saçar ve floresan ışıkta salabilir. Üzerinde floresan molekülü bulunan partiküller bu floresan ışığı yayar. Saçılmış ışık ve floresan ışık uygun bir şekilde yerleştirilmiş lens-

ler tarafından toplanır. Işık demeti dağıtıcısı ve filtrelerin kombinasyonu ile saçılmış ışık ve floresan ışık uygun detektörlere yönlendirilir. Detektörler tarafından alınan bu sinyaller daha sonra elektronik sistemler tarafından yorumlanabilecek dijital sistemlere dönüştürülür. Her partikül veya hücre için bir veri toplanır. Bu sinyaller bilgisayar ortamına aktararak hücrelerin büyüklüğü, granülaritesi, içyapısı ve floresan yoğunluğu hakkında bilgi verir. Bu veriler örnek içindeki alt popülasyonlar hakkında bilgi elde etmek için de analiz edilebilir (Yentsch ve diğ., 1983; Demers ve diğ., 1989). Şekil 1'de AS'nin temel çalışma prensibi gösterilmiştir. Bazı AS'lere kullanıcı isteklerine bağlı olarak hem tanımlama hemde sınıflama yapacak ekipmanlar eklenebilmektedir.

### Hücre Karakteristiklerinin Ölçülmesi

Bir hücre lazer ışık demetinin önünden geçerken ışık Şekil 2'de görüldüğü gibi farklı yönlere saçılır. İleri saçılma hücrenin büyüklüğü, 90 derecelik yan saçılma da hücre içi kompleksliği hakkında bilgi verir. Bu bilgiler her bir noktanın bir hücreyi temsil ettiği noktasal grafikte gösterilir (Şekil 3).

Bugün AS ile aynı anda hücrelerin birden fazla popülasyonları üzerine araştırmacılar çalışabilir ve hücre kompleksliği ve büyüklüğü hakkında bilgi elde edebilir (Tung ve diğ., 2007).



Şekil 1. AS'nin temel çalışma prensibi ve genel görünümü (Shapiro, 2003).

Figure1. Basic working principle of FCM and genreal overview (Shapiro, 2003).



### AS Cihazının Temel Bileşenleri

Bir AS 3 temel parçadan oluşur: akış sistemi, optik sistem ve elektronik sistem. Akış sisteminin amacı partikülleri bir sıvı içerisinde lazerle tek sıra halinde temas edeceği şekilde taşımaktır. Çalışılacak örneğe göre, akış hızı partiküllerin içinden geçtiği boru çapına ve çeşitli parametrelere göre ayarlanabilir (Şekil 4). Daha yüksek hızlı akış, immün fenotipleme gibi kalitatif çalışmalarda kullanılırken, daha düşük hızlı akış daha çok DNA analizi gibi uygulamalar için önemlidir (Shapiro, 2003; Ormerod, 2008; Seoane ve diğ., 2014).

Optik sistem uyarı optikleri ve toplama optiklerinden oluşur. Uyarı optikleri lazer ışığını şekillendirmekte ve odaklamada kullanılan lazerlerden ve lenslerden oluşur. Toplama optikleri partiküllerin lazerle temasından sonra saçılan ışıkları toplamak için kullanılan toplama lenslerinden ve belirli dalga boylarında toplanmış ışığı, uygun optik detektörlere yönlendiren filtrelerden oluşur. Çalışılacak parametre sayısına bağlı olarak, lazer, optik filtre ve dedektör sayıları artırılabilir (Shapiro, 2003; Ormerod, 2008; Seoane ve diğ., 2014).

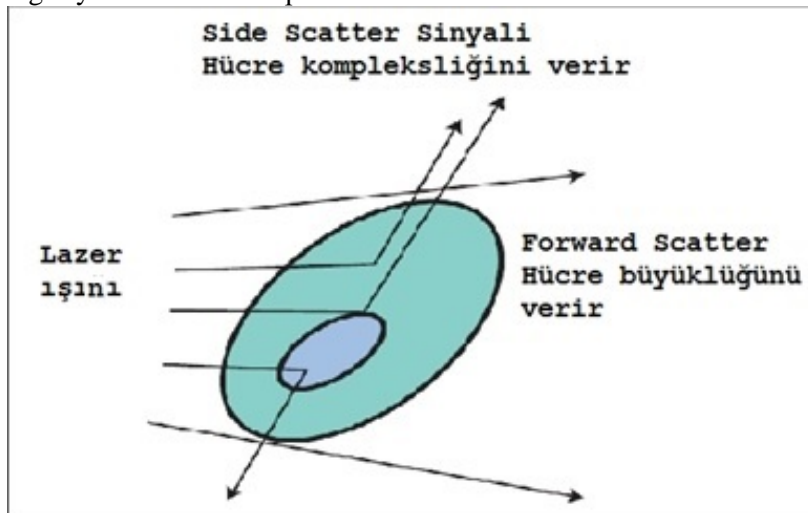
Elektronik sistem tespit edilen ışık sinyallerini, bilgisayarda işlenebilecek elektronik sinyallere çevirir. Veriler bilgisayar sisteminde toplanır ve

yazılım programları ile analizi yapılır. Optik sinyallerin veri aktarımını sağlamak üzere dijital sinyallere, voltaj değerlere, çevrimi sağlanır. Voltaj değerinin yüksekliği, genişliği ve alanı hesaplanır. Bilgi aktarımı görevi görür. Bazı hücre sınıflama özelliği ile donatılmış AS' lerde elektronik sistem bu sınıflandırma da kullanılır (Demers ve diğ., 1989; Ormerod, 2008; Seoane ve diğ., 2014).

### Verilerin Değerlendirilmesi ve Saflaştırma

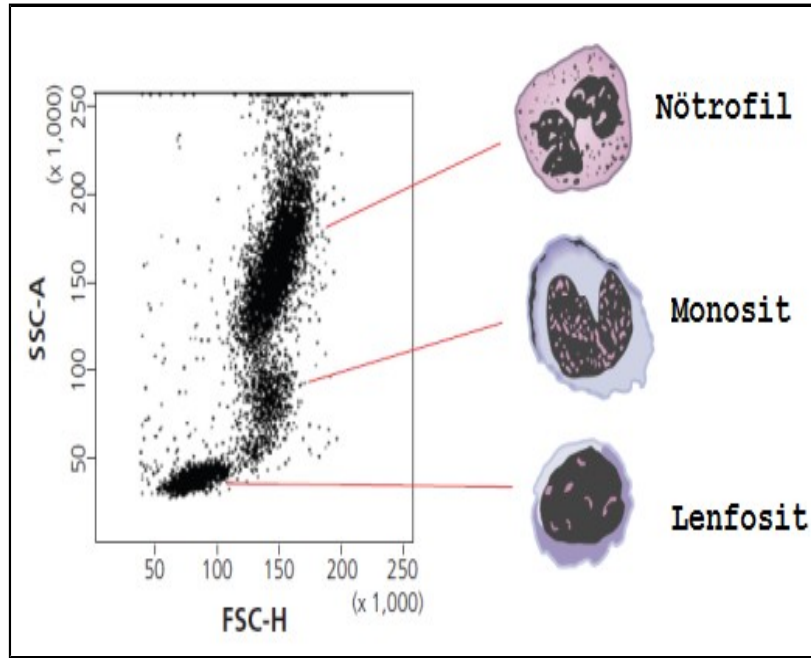
Hücreler analiz edilirken bilgisayar sisteminde toplanan veriler farklı grafikler kullanılarak ifade edilir. Nokta alan (dot-blot) ve histogram en çok kullanılan grafiklerdir. Nokta alan grafiğinde her bir nokta tek bir hücreyi göstermektedir. Histogram ise tek bir parametrenin floresan yoğunluğunu ifade etmektedir (Rahman, 2006).

AS ile hücre popülasyonları hem analiz edilebilir hem sınıflandırılabilir. Bu tek tip hücreyle çalışmak isteyen araştırmacılar için çok önemli bir özelliktir. Hücreleri ayırmak için başka yöntemler olmasına karşın, AS ile yapılan ayırma işleminde daha saf ve fazla miktarda hücre elde edilebilmektedir. İstenen hücreler tüplere, plakalara ve lamlara ayrılabilen ve hücre kültürü gibi çalışmalarda kullanılmaktadır (Demers ve diğ., 1992).



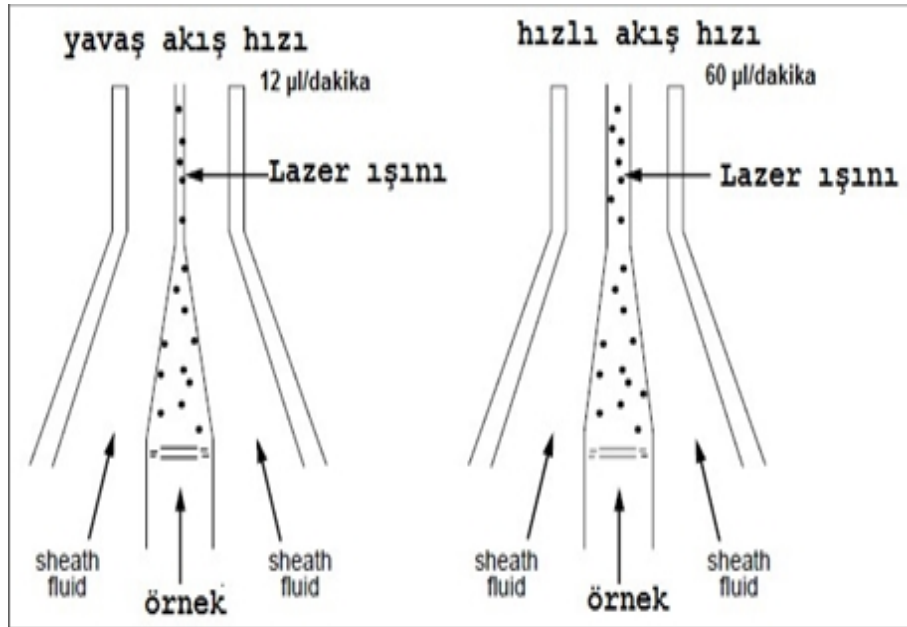
Şekil 2. Lazer ışınının önünden geçerken partiküllerden saçılan ışıklar (Seoane ve diğ., 2014).

Figure 2. Light scattering from the particles passing by the laser (Seoane ve diğ., 2014)



Şekil 3. Farklı kan hücrelerinin gösterildiği noktasal grafik (BD Flow Cytometry, 2008).

Figure 3. Dot plot showing various blood cell types (BD Flow Cytometry, 2008).



Şekil 4. Boru çaplarına göre hidrodinamik odaklanmanın düzenlenmesi (BD Biosciences, 2000).

Figure 4. Hydrodynamic focusing of the sample core through a flow cell (BD Biosciences, 2000).

Bazı sistemlerde aynı anda 4 sınıflandırma yapılabilir. Saflaştırma ya mekanik yolla ya da elektrostatik yolla yapılır. Elektrostatik yolla 100.000 hücre/sn.'ye ulaşılabilirken, mekanik yolla en çok 300 hücre/sn.'ye ulaşılabilir (BD Flow Cytometry, 2008).

### Su Ürünlerinde AS Uygulamaları

AS'nin su ürünlerinde çok yaygın bir kullanım alanı bulunmaktadır. Bu kullanım alanlarından bazıları, çeşitli gruplar halinde özetlenmiştir.

#### *Triploid Çalışmalarında*

AS su ürünleri alanında ilk olarak 1980'li yıllarda hem balıklarda hem diğer su ürünlerinde triploidy çalışmalarında kullanılmaya başlanmıştır (Thorgaard, 1982; Yentsch, 1983; Allen, 1983; Lecommandeur ve diğ., 1994). Thorgaard 1982 yılında kendiliğinden gözlenen ve uyarılarak oluşturulan triploid gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) kırmızı kan hücrelerinin DNA içeriğinin AS ile analiz ederek tanımlanabileceğini belirtmiştir. Sazan ve salmonlarda poliploid durumun olup olmadığını, balıklarda kan hücreleri ve granülosit örnekleri, istiridyelerde ise hemolenfler AS ile inceleyerek başarılı bir şekilde tespit etmişlerdir (Allen, 1983). Chaiton ve Allen 1985'te Pasifik istiridyelerinde kromozom sayılarına bağlı olarak larval aşamada ploidy AS ile güvenilir bir şekilde kısa sürede tespit etmişlerdir. Lecommandeur ve diğ. (1994) larval aşamada gökkuşuğu alabalığında ploidy nin saptanmasında hızlı ve basit bir metot olarak AS'yi kullanmıştır. Bunun için gökkuşuğu alabalığı yumurtaları doğrudan bir buffer içine alınarak nükleik asitin serbest kalması sağlanmış ve DNA florokrom boya ile boyanarak AS ile analiz edilmiştir. Böylelikle AS ile birkaç dakika içinde diploid ve triploid ayrımı histogramlarla yüksek kalitede saptanabilmiştir. Su ürünlerinde biyoteknolojide sperm ve embriyo dondurma çalışmalarında da AS kullanılmıştır (Lezcano ve diğ., 2004). Lezcano ve diğ. (2004) penaeid karides (*Litopenaeus vannamei*) sperm veya embriyoların dondurularak saklanması çalışmalarında farklı solüsyonlar kullanarak dondurulan hücrelerin çözüldükten sonra canlılığının belirlenmesinde optik mikroskopun yanı sıra AS'yi kullanmıştır. Bunun için propidiumiodine kullanarak hücrelerin DNA' la-

rını işaretlemiş ve AS ile canlı hücreleri ayırt ederek spermin kalitesini belirlemişlerdir. Özellikle hızlı bir yöntem olması açısından dondurulma işlemi sırasında kullanılan kimyasal solüsyonların hücrede yaptığı etkilerin araştırılmasında, osmotik şok sonucu hücrede oluşabilecek olan şişkinlik ya da büzüşme gibi morfolojik bozuklukların tespiti yanı sıra çözünme işleminde canlı ve ölü hücrelerin ayırt edilmesinde de AS kullanılmaktadır (Lezcano ve diğ., 2004).

#### *Planktonik Çalışmalarda*

Deniz ekosistemi büyük ölçüde plankton ve onu kuşatan çevrenin etkileşimine bağlıdır. Plankton deniz biyomasının  $\frac{3}{4}$  ünü oluşturur. AS'nin planktonik organizmalarda kullanılmasıyla mikrobiyal planktonun doğal popülasyonlarının ekolojik ve fizyolojik çalışmalarında, ekosistemin yapısı ve dinamiği hakkında önemli gelişmeler sağlanmıştır (Yentsch ve diğ., 1983; Demers ve diğ., 1989). Fitoplankton deniz besin zincirinin temelidir. Atmosferdeki karbon döngüsünde anahtar bileşendir ve sera etkisinin düzenlenmesinde anahtar rol oynar. Fitoplankton tarafından üretilen dimethylsulfoniopropionate (DMSP) bulut oluşumunda önemli rol oynar. Fitoplanktonun gerek sayılarında, gerek boyutlarında, gerekse de tür kompozisyonunda herhangi bir nedenle meydana gelebilecek değişimler tüm deniz canlılarını ve aynı zamanda etkileşim içinde bulunduğu biyosferi de etkileyecektir (Develi, 2009). Bu yüzden akuatik ortamda son derece bol miktarda bulunan, taksonomik olarak çok çeşitli, dinamik bir yapıları olan planktonik organizmaların takibi son derece önemlidir (Seoane ve diğ., 2014). Geniş bir yelpazeye sahip fitoplanktonun deniz ortamıyla etkileşimini daha iyi anlamak; küresel ısınma, iklim değişikliği ve kirlilik üzerine daha derin bilgilere sahip olmamıza ve deniz ekosistemi üzerine büyük ölçekte etkilerini tahmin etmemize olanak sağlar. Bugüne kadar bu konudaki araştırmalar için klasik ve teknolojik birçok yöntemler kullanılmıştır (Mohammed, 2015).

AS 30 yılı aşkın bir süre pikoplankton seviyesinden mikroplankton seviyesine kadar birçok farklı alanda tek hücre seviyesinde bu araştırmalarda en çok kullanılan yöntemlerden biri olmuştur (Veldhuis ve Kraay, 2000; Bonato ve diğ., 2015; Bonato ve diğ., 2015). Bu organizmaların tanımlanma-

sında, biyomas ve yoğunluklarının saptanmasında hızlı, kolay ve güvenilir ölçümler yapabilen AS'den faydalanma yoluna gidilmiştir. Veldhuis ve Kraay (2000) AS'nin her bir alg hücresinin fizyolojik durumu hakkında detaylı bilgi verdiğini ve yeni boyama yöntemleriyle bu hücrelerin arasında ölü ve canlılık ayırımının yapılabildiğini belirtmiştir.

Demers ve diğ. (1989) fitoplanktonun çevresel ve fizyolojik durumunu akım sitometriyle incelemişler ve ortamdaki besin durumunun fitoplanktonik organizmaların büyüklükleri üzerine etki ettiklerini öne sürmüşler. Marie ve diğ. (1997), doğal örneklerdeki hücresel DNA'yı boyayarak hem hücrelerin sayımını hem de hücre döngülerinin AS ile analizini yaparak okyanus ortamındaki pikoplankton dinamiğini ve yapısını anlamada AS'nin çok faydalı olabileceğini belirtmiştir.

Vives-Rego ve diğ. 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada AS'nin akuatik ve çevresel mikrobiyolojide kullanılan çok değerli bir araç olduğunu belirtmişlerdir. AS'nin hücre büyüklüğünü ve dağılımını bunlara ek olarak heterojen bir popülasyondaki tek bir hücrenin fizyolojik ve biyokimyasal karakteristikleri gibi birçok özelliklerini hızlı ve direk olarak tespit etmede kullanılan bir yöntem olduğunu öne sürmüşlerdir (Vives-Rego ve diğ. 2000).

Planktonik ekosistemdeki canlı biyomasın önemli bir kısmını oluşturan, son derece küçük yapılarından ve çeşitliliğinden dolayı çalışılması zor olan nanoplanktonik organizmalar Rose ve diğ. (2004) tarafından AS ile incelenmiş ve bu organizmaların akuatik sistemdeki trofik dinamiğin ve enerji akışının anlaşılmasına katkı sağladığını belirtmişlerdir. Duhamel ve diğ. (2008) yaptıkları çalışmada fitoplankton popülasyonlarında hücre seviyesinde fosfataz aktivitesinin tespiti ile ilgili AS kullanmıştır. Lucasa ve diğ. (2010) tropikal karides havuzlarında yaptıkları yem girişindeki artışa eşzamanlı olarak stok karides biyomasını incelediği çalışmada AS ile havuzlarda 110 günlük periyotta fitoplankton ve bakteriyoplankton stok ve dinamiklerini izlemişlerdir. Çalışma sonucunda AS'nin su ürünleri sistemlerinde fitoplankton ve bakteri dinamiği komplekslerini anlamamızı geliştirmede ve hastalık gelişimi üzerine potansiyel etkilerini izlemede faydalı olduğunu öne sürmüşlerdir.

### Hematolojik ve İmmünolojik Çalışmalarda

AS tek hücre seviyesinde çoklu ölçümlerin kolay ve hızlı bir şekilde uygulanabilmesine olanak sağlamasından dolayı balık hematolojisi, patolojisi ve immünolojisi alanlarında ki araştırmalar için de büyük potansiyeller taşır. İmmunologlar rutin olarak AS'yi lökosit alt popülasyonlarını fenotipik olarak karakterize etmek için kullanırlar (Chilmonczyk ve Monde, 1998). İmmun sistem hücrelerin metabolik aktivitelerini izlemek için potansiyel bir fırsat sunar. Çeşitli omurgalı türlerdeki lökosit kompozisyonunun ölçülmesinde rutin olarak kullanılır. Bu da immün sistemin mevcut durumu hakkında önemli bir bilgi sağlar (Stosik ve diğ., 2002).

Valet (1984) kan hücrelerin sayımı ve farklı alt gruplara ayrılmasına yönelik AS kullanarak yeni bir yöntem kullanmıştır. Ellsaesser ve diğ. (1985) kanal kedi balığındaki (*Ictalurus punctatus*) lökositleri mikroskop ve AS yöntemi kullanarak tanımlamışlar ve ayırmışlar, stresli ve enfekte balıklarda önemli hematolojik değişiklikler olduğunu belirtmişlerdir. Donald ve diğ. (1987), kanal kedi balıklarının ön böbrek, dalak ve kandan elde ettikleri hücrelerinde bulunan spesifik olmayan sitotoksik hücreleri AS yöntemini kullanarak analiz etmişlerdir. Thuvander ve diğ. (1987), gökkuşuğu alabalığının periferik lökositleri arasında fagositik hücrelerin oranını in vitro olarak tespit etmek için AS ve elektron mikroskopu yöntemini kullanmışlardır. Morgan ve diğ. (1993) bazı salmonid balıklarda farklı kan hücre tiplerinin oranlarını ölçmek için AS yöntemini kullanmışlar ve bu yöntemin balık kanındaki hücre popülasyon dinamiğini izlemek için hızlı ve güvenilir bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir.

Rombout ve diğ. (1993) sazanlarda AS yöntemi kullanarak, balıklarda mukozal bağışıklığı anlamak için mukus ve serum Ig arasındaki farkları araştırmışlardır. Balıklarda mukozal bağışıklık patojenik olarak yoğun ortamlarda yaşayan balıklarda çok önemli olabilmektedir. Kemenade ve diğ. (1994) sazanlarda (*Cyprinus carpio*) makrofaj ve nötrofillerin fagositik aktiviteleri in vitro olarak AS kullanarak analiz etmişlerdir. Rombout ve diğ. 1996 yılında yaptıkları bir diğer çalışmada ise spesifik monoklonal antikor kullanarak sazanlarda trombositleri karakterize etmişlerdir. Koumans-van Diepen ve diğ. (1994) sazanlarda



B hücreleri ve plazma hücrelerinin böbrek, dalak, timüs ve kandaki ontojenik gelişimlerini AS yöntemiyle tespit etmişler ve sonuçların sazanlarda humoral bağışıklık sisteminin anlaşılmasına katkı sağladığını belirtmişlerdir.

AS çeşitli balık türlerinde hücrel immun fonksiyonlarını ve balık lökosit alt popülasyonlarını analiz etmek için hızlı ve tekrarlanabilir bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Chilmonczyk ve Monge (1998) gökkuşuğu alabalığında spesifik olmayan hücrel bağışıklık sistemiyle ilgili çalışmada bu yöntemi kullanmış ve patojen ve balık arasındaki ilişkiye yönelik faydalı bilgiler elde ettiğini belirtmiştir. İlaveten bu savunma mekanizmalarını ölçmek için (fagositik aktivite, oksidatif burst ve doğal sitotoksik test) patolojik şartlar altında hücrel cevapların düzenlenmesini analiz etmişlerdir. Farklı birçok balık türü bulunması verilerin yorumlanmasını zorlaştırmasına rağmen, AS'nin balıklarda immünolojik çalışmalar ve balık patolojisinin klinik boyutuyla ilgili çalışmalarda faydalı bir teknik olduğunu belirtmişlerdir (Chilmonczyk ve Monge, 1998).

Cuesta ve diğ. (1999) çipuralarda (*Sparus aurata*) kanser hücrelerine karşı ön böbrek lökositlerde spesifik olmayan sitotoksik aktivitesini ölçmek için kolay ve hassas iki renkli AS ve mikroskopik yöntemleri kullanmışlardır. Bu yöntemin balıklarda spesifik olmayan sitotoksik hücrelerin aktivitelerini ölçmede etkin bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Pettersen ve diğ. (2000) AS ile, immunofloresans ve immunoenzim histokimya yöntemlerini kullanarak Atlantik salmon (*Salmo salar*) balıklarında kanda, dalakta ve ön böbrekteki spesifik monoklonal antikor gelişimini araştırmışlardır. Barreda ve diğ. (2000) AS kullanarak gold fish balıklarında makrofaj gelişim aşamalarının nasıl olduğunu göstererek, makrofaj biyolojisinin ve balıkların enfeksiyöz etkenlere karşı immun cevap oluşturma mekanizmasının anlaşılmasına önemli katkı sağlamışlardır.

Esteban ve diğ. (2000), levrek balıklarında (*Dicentrarchus labrax*) kan hücrelerinin alt popülasyonlarını AS kullanarak ilk kez izole etmişler daha sonra mikroskopik olarak karakterize etmişlerdir. Elektron mikroskopuyla AS'nin birlikte kullanımıyla levreklerde periferik kandaki farklı hücre tiplerinin yüksek kesinlikle karakterize edilebildiğini belirtmişlerdir.

Stosik ve diğ. (2002) sazanlarda çeşitli ontogenik evrelerde nötrofillerin solunum patlaması analizi AS ile yapmışlar ve elde edilen verilerin daha önce yapılan çalışmalarla paralellik gösterdiğini belirtmişlerdir. Inoue ve diğ. (2002) sazanlarda AS yöntemi ile kan hücrelerini hızlı ve basit bir şekilde analiz ederek kan hücre popülasyonlarını tanımlamış ve 5 farklı gruba ayrıldığını belirtmişlerdir. Ayrıca her bir kan hücresini saymada AS yöntemini kullanmışlardır.

Milston ve diğ. (2003), çevresel faktörlerin Chinook salmonların (*Oncorhynchus tshawytscha*) humoral bağışıklık sistemi üzerine etkilerini in vitro koşullarda AS ile araştırmışlardır. Bu yöntemin balık immünoloji çalışmalarında faydalı bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Köllner ve diğ. (2004) AS ve immuno-elektron mikroskop kullanılarak gökkuşuğu alabalıklarında trombositlerin fonksiyonlarını ve immun cevaptaki potansiyel rollerini araştırmışlardır. Korytar ve diğ. (2013) çok renkli AS kullanarak gökkuşuğu alabalıklarında lökosit alt gruplarını tanımlamıştır. Bu çalışmadan elde edilen bulgularla hem patolojik hem fizyolojik cevap sırasında immun sistem hücre komponentlerinin doğru bir şekilde ölçülmesinin mümkün olduğunu ve bu durumda immun sistemi daha iyi anlamamızı ve gelecekteki aşı geliştirme çalışmaları için mükemmel bir potansiyel sağladığını öne sürmüşlerdir. Bu yöntemin hızlı, basit ve doğru sonuçlar veren bir yöntem olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışmayla ayrıca lenfoid organlar arasında hücre trafiğinin nasıl olduğuna yönelik detaylı bilgi sahibi olduğu vurgulanmıştır. AS'de kullanılan kapılama (gating) yöntemiyle hücreler gruplara ayrılarak 90 dk içinde çok yüksek adette hücre kinetiğinin hızlı ve doğru bir şekilde ölçülmesi sağlanmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında lökositler eritrositlerden ayrılmıştır. Sonraki aşamada hücre debrisleri çıkarılmıştır. En son aşamada da 6 adet monoklonal antikor ve çeşitli florokromlar kullanılarak lökosit alt grupları kapılama sistemiyle gruplara ayrılarak tanımlanmıştır (Korytar ve diğ., 2013).

Ito ve diğ. (2014) 3 balina köpek balığında kan parametrelerinin ölçümünde AS yöntemini kullanmışlar ve bu yöntemin basit, hızlı, pratik ve güvenilir bir hematolojik yöntem olduğunu öne sürmüşlerdir. Ayrıca bu yöntemin diğer kıkırdaklı balıkların hematolojik analizinde de kullanıla-



bileceğini öne sürmüşlerdir. Bununla birlikte lenfosit, trombosit ve 3 farklı granülosidin etkili bir şekilde ayrılmasına ihtiyaç duyulduğunu belirtmişlerdir.

Alcox ve Ford (1998) deniz bivalvierinde hematositlerin sayısı ve özelliklerindeki çeşitliliği ve çevresel koşullar altındaki ilişkilerini rapor ettiği çalışmada AS ile istiridyeye hemosit popülasyonunu küçük granüller içeren, granüller içeren ve granül içermeyen olmak üzere 3 farklı tip hücre yapısında olduğunu belirtmişlerdir. Hegaret ve diğ. (2003) ani sıcaklık değişimi gibi çevresel strese maruz kalmış istiridyelerdeki (*Crassostrea virginica*) bağışık yanıtı AS kullanarak araştırmışlardır. Bu çalışmada istiridyeye hemositleri karakterize edilmiş, sayılmış, canlılık durumları ve fagositik aktiviteleri tespit edilmiştir (Hegaret ve diğ., 2003). Goedken ve De Guise (2004) yaptıkları çalışmada AS'nin bivalve immün sistemini ve istiridyelerde hastalık patogenezi anlamada çok faydalı bir araç olduğunu belirtmişlerdir.

Bihari ve diğ. (2003) Adriyatik denizinde farklı 17 noktadan toplanan midyelerde (*Mytilus galloprovincialis*) kaslarındaki hemositlerde DNA hücre döngülerindeki farklılıkları tespit etmek için AS kullanmış ve kas hemosit DNA sında hücre döngüsü karakteristiklerindeki değişiklikleri tespit etmek için çok güçlü bir teknik olduğunu vurgulamışlardır. İstiridyelerde (*Crassostrea ariakensis*) yapılan bir diğer çalışmada ise Donaghy ve diğ. (2009) AS'yi hemositlerin morfolojik ve immünolojik aktivitelerini incelemek amacıyla kullanmış, hyalinosit, granulosit ve blast benzeri hücre olmak üzere 3 tip hemosit hücre tanımlamıştır. Taylor ve diğ. (2009) doğal ve yetiştiricilik ortamındaki kerevitlerin fizyolojik durumunun incelenmesinde AS'yi hemositlerin karakterizasyonunda kullanmış, omurgasız hemosit sınıflandırmasında belirtildiği gibi, hücreleri hyaline, semigranüler ve granüler hemosit olmak üzere tanımlamıştır. Geliştirdikleri metotla 3 farklı göldeki doğal ve üretimi yapılan kerevit popülasyonlarının total hemosit değerlerini ve diferansiyel hemosit değerini hesaplamışlardır. AS'nin kerevitlerin fizyolojik durumunu tespit etmede çok faydalı bir araç olduğunu belirtmişlerdir (Taylor ve diğ., 2009).

#### *Akuatik Organizmaların Fagositik Aktivitelerinde*

Balıklarda bağışıklık sisteminde rol alan hücrelerin fagositik aktiviteleri; çevresel kirleticilerin immunotoksik etkilerini, su ürünlerinde kullanılan immunostimulant ve aşılarda etkinliğini ve patojenlere karşı balıkların immun cevabını ölçmek gibi çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. AS ile hücreler büyüklük, granüllük durumu ve florasan sinyallerini emiş durumuna göre alt popülasyonlara ayrılır ve florasan maddelerin fagositik hücreler tarafından absorbe edilmelerine ve solunum patlamasından dolayı boyaların azalmalarına bağlı olarak ölçümler yapılır. Örneklerde incelenmek istenmeyen hücreler kapılama (gating) yöntemiyle dışarıda bırakılır. Böylelikle hem fagositik aktivite hemde solunum patlaması analizi sonuçlarının etkilenmesi önlenmiş olur (Haugland ve diğ., 2014).

Esteban ve diğ. (1998) çipura balıklarındaki lökositlerin *Vibrio anguillarum*'a karşı fagositik aktivitelerini ölçmek ve fagositik hücreleri karakterize etmek için AS yöntemini optimize edecek bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda *Vibrio anguillarum* bakterisinin makrofajlar ve asidofilik granulositler tarafından aktif bir şekilde fagosite edildiklerini tespit etmişlerdir (Esteban ve diğ., 1998).

AS'nin fagositik hücre oranlarının tam ve doğru olarak sayılmasında ve fagositik aktivitelerin ölçülmesinde uygun bir yöntemdir ve günümüzde birçok immünolojik çalışmada hastalık süresince veya aşılama sonrasında fagositoz aktivitesinin ölçülmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lehmann ve diğ., 2000; Ortuno ve diğ., 2000).

Ortuno ve diğ. (2000) in vitro koşullarda çipura ön böbrek lökositlerinin solunum patlaması aktivitesi esnasında hidrojen peroksit üretiminin kinetiğini ölçmek için AS yöntemini kullanmıştır. Sazanlarda çeşitli ontogenik evrelerde nötrofillerin solunum patlaması analizi AS ile yapılmıştır. Elde edilen veriler daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermiştir (Stosik ve diğ., 2002). Moritomo ve diğ. (2003) Ayu (*Plecoglossus altivelis*) balığının kan ve böbreğindeki Nötrofil burst aktivitesini sazan, gökkuşağı alabalığı, yılan balığı ve havuz balığının Nötrofil burst aktivitesiyle AS yöntemi kullanarak karşılaştırmıştır. Harford ve diğ. (2006), Avustralya'da tatlı sularda yaşa-

yan 3 balığın (*Macquaria ambigua*, *Bidyanus bidyanus*, *Melanotaenia fluviatilis*) fagositoz aktivitesini ölçmek için AS yöntemini kullanmış ve gelecekte immunotoksik teslerde kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir.

Newaj-Fyzul ve diğ. (2007), gökkuşağı alabalığında patojenik olan *Aeromonas* enfeksiyonlarına karşı probiyotik etkinliği geliştirmek için *Bacillus subtilis* bakterisini kullanmışlardır. Bu bakteriyle etkileşimde gökkuşağı alabalığının kan hücrelerinde meydana gelen değişiklikleri AS yöntemi ile ölçülmüştür. Gomez ve diğ. (2014) çipuralarda peritoneal exudattaki mast hücrelerinin fraksiyonlarının analizinde AS yöntemini daha sonra da elektron mikroskobu kullanarak balık mast hücrelerinin diğer hücrelerden ayrılmasının daha gelişmiş omurgalıların inflamasyon mekanizmasını anlamamızda önemli bir adım olduğunu belirtmişlerdir. Corytar ve diğ. (2013) çok renkli AS kullanarak gökkuşağı alabalıklarında lökosit alt bölümlerini tanımlamış ve bu çalışmadan elde edilen bulgularla hem patolojik hem fizyolojik cevapta daha iyi aşı geliştirme çalışmalarına katkı sağlayacağını belirtmiştir. Atienza ve diğ. (2015) su ürünlerinde kullanılacak potansiyel probiyotiklerin bağışıklık sistemi üzerine etkilerini; lökosit canlılığı, solunum patlaması ve fagositik aktiviteleri yönünden in-vitro olarak ölçmek için AS' nin çok faydalı bir araç olduğunu belirtmişlerdir.

#### Toksikoloji Çalışmalarında

Su ortamındaki bütün kirleticiler biyotik komüniteleri etkiler ve ekosistemin yapısını değiştirir. AS su ürünlerinde toksikoloji çalışmalarda, immunostimulantlar, probiyotikler ve çevresel kirleticilerin immunotoksikolojik değerlerinin ölçülmesinde kullanılmaktadır. Örneğin bakır yüksek konsantrasyonlarda mikroalgler için toksik etki gösterebilir. Mikroalglerde büyümeyi ve fotosentezle ilişkili diğer parametreleri etkiler (Cid ve diğ., 1995; Shelleyve diğ., 2009).

Cid ve diğ. (1995) deniz diatomlarından olan *Phaeodactylum tricornutum*'da fotosentez ve ilişkili parametreleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada klorofil a seviyesi AS ile pigment analizi ise HPLC (yüksek performanslı likit kromatografi) ile yapılmıştır. Sauve ve diğ. (2002) çeşitli metal bileşiklere deneysel koşullarda in vitro

olarak maruz bırakılan bazı deniz ve tatlısu bivalvialarındaki hemositlerin fagositik aktivitelerini AS kullanarak tespit etmişlerdir.

Hadjoudja ve diğ. (2009) havuzlarda plankton patlamasına karşı algasit olarak kullanılan bakır sülfata 24 ve 48 saat süreyle kısa süreli maruz bırakılmış *Microcystis aeruginosa* ve *Chlorella vulgaris* adlı cyanobakteriler üzerine bakır toksitesinin etkisini AS, Wu ve diğ. (2012) ise inorganik civa ve metil civanın toksik etkisinin bir deniz diatomu olan *Thalassiosira weissflogii*'in büyüme oranına ve fotosentez yapmasına etkisini AS ve FLIM yöntemleri kullanılarak araştırmıştır. Shelley ve diğ. (2009) AS kullanılarak chlo-rothalonil, cypermethrin ve pentachlorophenol isimli 3 pestisidin juvenil gökkuşağı alabalığının immun sistemi üzerine etkisi in vivo olarak incelemiştir.

Akuatik türlerde kimyasal yaralanmaların mekanizmasını anlamak için AS uygulaması çok faydalı bir yöntem olmuştur. Çevrede çok fazla miktarda bulunan kirleticilerden olan PBDE balıklarda, yaban hayatında ve insan dokularında kalıntıya sebep olur. Bu kimyasalın alabalık solungaçlarına verdiği zararı anlamak için Shao ve diğ. (2009) AS ile bir çalışma yapmış ve AS' nin akuatik türlerde kirleticilerin balıklardaki yaralanma mekanizmasını anlama fırsatı sağladığını belirtmişlerdir. Danion ve diğ. (2011) çalışmada kronik hidro karbon (petrol) kullanılmıştır ve petrol kirliliğine maruz kalan levrek balıklarının sağlık durumu ve immun sistem üzerine etkisini deneysel olarak araştırmıştır. Ham petrolün kas ve safradaki konsantrasyonu gaz kromatografisi ve kitle spektrometrisiyle ölçülürken lökosit ve farklılaşmış lökosit hücreleri klasik hematolojik yöntemlerle yapılmıştır.

AS ile hücre ölümleri ve lökositlerin fagositik aktiviteleri araştırılmıştır. Xian ve diğ. (2012) kaplan karideslerinin (*Penaeus monodon*) hemositleri üzerine nitritin toksitesini invitro olarak araştırdığı çalışmada reaktif oksijen ve nitritoksik üretimi, esteraz aktivitesi yanı sıra hematozis hücrelerin apoptozu AS kullanarak incelenmiştir. Bir başka çalışmada da As ile Xian ve diğ. (2013) kaplan karideslerinin hemositleri üzerine kadmiyumun toksik etkisini araştırmış ve intraselüler nitrit oksit üretimimin ölçümü için AS metodu ile 4-amino-5-methylamino-2',7'- difluorofluorescein

diacetate (DAF-FM DA) işaretli fluoresen bir prob kullanarak hemositlerdeki nitritoksiti saptamıştır.

Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) toksik ve kanserojen etkiye sahip organik yapıda bileşiklerdir ve çevrede uzun süre kalmaları sonucunda çevre kirlenmesine sebep olurlar. Mikroorganizmalar tarafından PAH'ların parçalanmalarının araştırılması çevrenin daha kısa bir sürede temizlenmesi açısından önemlidir (Alver ve diğ., 2012). Ayrıca PAH'lar balık popülasyonları içinde kanserojen ve immunotoksik potansiyeline sahiptir. Nogueira ve diğ. (2009) AS ile juvenil yılan balığının (*Anguilla anguilla*) (dmba) 7,12-dimethylbenz[a]anthracene'e akut olarak maruz kalması sırasında veya sonrasında karaciğer, solungaç ve kan hücrelerindeki moleküler cevabı analiz etmişler ve bu çalışmada hidrokarbon kirliliğine karşı moleküler biyomarker geliştirmişlerdir. MacDonald ve diğ. (2012) petrolü kumlardan türemiş naftenik asidin gökkuşağı alabalığı üzerine immunotoksik etkisini araştırmada, immun sistemi harekete geçirmek için inaktive edilmiş *Aeromonas* suşları kullanmıştır. Kandaki ve lenfatik dokudaki T-lenfositler, B-lenfositler trombositler ve myeloid hücrelerin AS ile sayılmasıyla immun sistem hücreleri üzerine toksik etkileri tespit edilmiştir. Phalen ve diğ. (2013) ise PAH'ın alabalıklarda immun doku hücre popülasyon seviyesi üzerine etkisini tespit etmek için yaptıkları çalışmada yeni immunotoksikolojik model geliştirilmesinde temsilen benzo[a]pyrene kullanılmış ve AS yöntemi ile dalak, ön böbrek ve kandaki farklılaşmış lökositlerin tam sayımı yapılmıştır. AS farklı bilim dallarıyla işbirliği yapılarak ta yaygın bir şekilde kullanılabilir.

#### *Akuatik Mikroorganizmaların Tespitinde ve Sayımında*

Mikroorganizmalar yüksek konsantrasyonlarından ve aktivitelerinden dolayı akuatik ekosistemin temel parçalarındandır. Bu yüzden onların davranışlarını ve farklı problemlerdeki rollerini anlamak son derece önemlidir. Klasik yöntemler bu araştırmaları yapmada genellikle yetersiz kalmaktadır. AS son zamanlarda akuatik çevredeki mikroorganizmalar ile ilgi çalışmalarda kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki AS akuatik mikrobiyal ekoloji için gelecek vaat eden bir yöntem olmuştur (Troussellier ve diğ., 1993).

AS hem tek hücre hem de popülasyon düzeyinde mikrobiyal analize olanak sağladığı için her geçen gün akuatik mikrobiyoloji alanında esansiyel bir araç olmuştur (Troussellier ve diğ., 1993). Diğer tekniklerle karşılaştırıldığında hızlı veri toplanabilmesi ve çok parametrelili analizler yapılabilmesi AS'nin popüleritesinin artmasına ve birçok farklı alanda uygulanmasına olanak sağlamıştır. Başlangıçta sadece mikroorganizma sayımı yapılabilirken zamanla yeni florasan boyaların ve elektronik sistemlerin geliştirilmesiyle komünite yapısının analizi ve tek hücre seviyesinde mikroorganizmaların fizyolojik analizleri de yapılabilmektedir. En önemli özelliklerinden biri incelenecek mikroorganizmaların kültüre alınıp alınmasına bakılmaksızın analizlerinin yapılabilmesidir (Meyers, 2000).

Balıklarda hastalıklara yol açan patojen mikroorganizmaların teşhisinde de AS kullanılmaktadır. Endo ve diğ. (1998) AS'yi patojen olan *Lactococcus garvie*'nin hızlı tespitinde de kullanmış ve *L. garvie*'ye karşı antiserum hazırlamış ve immunolojik açıdan incelemiştir.

Joachimsthal ve diğ. 2003 yılında yaptıkları bir çalışmada AS'nin deniz suyu ve gemilerin balast suyundaki mikroorganizmaların analizinde oldukça hızlı ve hassas bir yöntem olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca AS'nin sağlık riski oluşturan mikroorganizmaların ölü ve canlı olarak bulunmasını sağladığını belirtmişlerdir.

Köllner ve diğ. (2002), *Aeromonas salmonicida* ile enfekte edilmiş gökkuşağı alabalığındaki lökosit popülasyonlarının sıcaklığa bağlı olarak aktive olmasını AS ile araştırmışlar ve spesifik antikor cevabın daha düşük sıcaklıklarda daha iyi geliştiğini öne sürmüşlerdir.

*Flavobacterium psychrophilum* alabalıklarda soğuk su hastalığı etkeni olarak bilinen ve ciddi kayıplara yol açan bir patojendir. Bu yüzden bu hastalık etkeninin erken teşhisi, hastalığın önlenmesi ve tedavisinde son derece önemlidir. Bu patojenin teşhisinde immunomanyetik ayırma yöntemi ve AS ile birlikte kullanılmış ve iki saatte daha kısa bir sürede bakterinin tespiti yapılabilmektedir (Hibi ve diğ., 2008).

Oligotrofik sulardan izole edilmiş bakterilerdeki fosfat aktivitesi de AS ile ölçülmüştür. Bu şe-

kilde heterotrofik bakterilerin sınırlamasına karşı verdiği fizyolojik cevabı anlamamızı sağlayan bir yöntem olarak kabul edilmiştir (Duhamel ve diğ., 2008). Duan ve diğ. (2013) tarafından iyi pişmemiş deniz ürünlerinden insanlara geçebilen bir zoonoz etkeni olan *Vibrio parahaemolyticus*'un anlık tespiti için çift renkli AS geliştirilmiştir.

Ölü veya canlı bakterilerin ve toplam bakteri miktarının doğru olarak tespiti birçok mikrobiyolojik uygulamada önemlidir. Klasik olarak kullanılan kültür tabanlı testler zaman alır. Yavaş gelişen ve kültüre alınamayan bakterilerde (Czechowska ve diğ., 2008; Alsharif ve Godfrey, 2002) ve gerçek zamanlı sonuçlara ihtiyaç duyulan durumlarda klasik yöntemler yetersiz kalırken AS ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir.

AS ile ölü ve canlı bakteriler hücre membranının Propidium iodide gibi boyaları geçirme durumuna göre ayırt edilebilirler. Böylece örnekteki bakteriler ölü, canlı veya total olarak AS ile sayılabilirler (Alsharif ve Godfrey, 2002). Nuding ve Zabel (2013) AS kullanarak, 10 tane farklı bakterinin tanımlanmasını ve çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını tespit etmiştir.

AS uygulaması medikal ve çevresel ortamdaki virüs ve virüs konakçı ilişkileri ile ilgili araştırmalarda büyük potansiyele sahiptir (Corina ve diğ., 2004). İntraselüler bir patojen olan İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis (IPN) virüsü deneysel uygulamadan sonra salmon lökositlerinde AS ile tespit edilmiştir. IPN virüsü ile aşılanmış, aşılanmamış ve intraperitoneal olarak virüs ile enfekte edilmiş salmonlar farklı zamanlarda analiz edilmiştir. Çalışma sonucunda AS'nin in-vivo uygulamadan sonra intraselüler virüs tespitinde ve taşıyıcı balıklarda virüs tespitinde (Rodríguez Saint-Jean ve diğ., 2001; Corina ve diğ., 2004) hassas olduğu gösterilmiştir (Rønneseth ve diğ., 2013).

## Sonuç

AS bileşenlerindeki gelişmelere ve gelişen taleplere göre sürekli gelişme göstermektedir. İlk çıkış noktası sadece hücre sayımı iken zaman içerisinde bu hücrelerin yapısı, gelişme aşamaları, içerikleri, fizyolojik tepkileri gibi farklı alanda da bilgi sahibi olmamıza olanak sağlamıştır. Bugün otomatize hale getirilmiş sürümleriyle rutin ola-

rak akuatik ortamın izlenmesi mümkün olmaktadır.

AS ile biyolojik indikatör olarak kullanılan canlılarda hücresel düzeyde fizyolojik çalışmalar yapılarak ortamdaki canlılarda klasik yolla tespit edilemeyen büyüme sınırlandırıcı etkenleri erken bir aşamada tespit etmek mümkün olmaktadır. Bu şekilde antibiyotik ve diğer canlılar için toksik olabilecek maddelerin hedef kitle dışındaki canlıların üzerine etkileri kısa bir sürede tespit edilebilmektedir (Seoane ve diğ., 2014).

AS'nin diğer bir güçlü yanı farklı moleküler tekniklerle birlikte kullanılarak, tek hücre seviyesinden popülasyon seviyesine kadar akuatik mikrobiyolojinin çok geniş uygulama alanlarında kullanılan güçlü bir teknik olmasıdır. Kullanılan florasan boyaların ve monoklonal Antikorların artmasıyla AS mikrobiyal çeşitliliği ileri derecede araştırmak için kullanılabilir. Daha ileri aşamalarda AS portatif ve online olarak akuatik sistemdeki mikrobiyal toplulukların yönetimi ve izlenmesinde daha hızlı ve etkili bir şekilde kullanılabilir (Wang ve diğ., 2010).

AS rutin olarak plankton analizi yapılmasıyla okyanuslarda dahil olmak üzere akuatik ortamdaki pikoplankton gibi çok küçük olanları dahil olmak üzere planktonik organizmaların yapısını ve dinamiklerini anlamamıza katkı sağlayacaktır (Marie ve diğ., 1997). Su ürünlerinde potansiyel immunostimulant, probiyotik tespiti ve aşı geliştirme çalışmalarında diğer moleküler tekniklerle uyumlu bir şekilde kullanılabilir. Memelilerde kullanılan boyaların büyük bir çoğunluğu balıklardaki araştırmalar içinde uygundur. Bu yüzden AS kan yapıcı hücreler ve hücresel aktiviteleri ile ilgili çalışmalarda çok faydalı bir araç olarak ortaya çıkmaktadır (Chilmonczyk ve Monge, 1998; 1999).

## Literatür

- Alcox, K.A. & Ford, S.E. (1998). Variability in molluscan hemocytes: a flow cytometric study. *Tissue Cell*, 30(2), 195-204.
- Allen, S.K. (1983). Flowcytometry: Assaying experimental polyploid fish and shellfish. *Aquaculture*, 33(1-4), 317-328.
- Alsharif, R. & Godfrey, W. (2002). Bacterial detection and Live/Dead discrimination by



- flow cytometry. Immunocytometry systems, BD Biosciences, San Jose, USA.
- Alver, E., Demirci, A. & Özçimder, M. (2012). Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar ve Sağlığa Etkileri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 3(1), 45-52.
- Barreda, D.R., Neumann, N.F. & Belosevic, M. (2000). Flow cytometric analysis of PKH26-labeled goldfish kidney-derived macrophages. *Developmental & Comparative Immunology*, 24(4), 395-406.
- BD Biosciences (2000). Introduction to flow cytometry: A learning guide. Available at: <https://tr.scribd.com/doc/184733295/Introduction-to-Flow-Cytometry-A-Learning-Guide> (Accessed April 8, 2015).
- BD Flow Cytometry (2008). Technical Bulletin. [https://www.bdbiosciences.com/documents/BD\\_Research\\_FlowCyto\\_TechBulletin.pdf](https://www.bdbiosciences.com/documents/BD_Research_FlowCyto_TechBulletin.pdf) (Accessed May 18, 2015).
- Bihari, N., Mičić, M., Batel, R. & Zahn, R.K. (2003). Flow cytometric detection of DNA cell cycle alterations in hemocytes of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) off the Adriatic coast, Croatia. *Aquatic Toxicology*, 64(2), 121-129.
- Bonato, S., Christaki, U., Lefebvre, A., Lizon, F., Thyssen, M. & Artigas, L.F. (2015). High spatial variability of phytoplankton assessed by flow cytometry, in a dynamic productive coastal area, in spring. *The Eastern English Channel, Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 154, 214-223.
- Chaiton, J.A. & Allen, S.K. (1985). Early detection of triploidy in the larvae of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, by flow cytometry. *Aquaculture*, 48(1), 35-43.
- Chilmonczyk, S. & Monge, D. (1999). Flow cytometry as a tool for assessment of the fish cellular immune response to pathogens. *Fish & Shellfish Immunology*, 9(4), 319-333.
- Chilmonczyk, S. & Monge, D. (1998). Cellular Immune Response in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): Flow Cytometric Study. *Acta Veterinaria Brno*, 67, 207-213.
- Cid, A., Herrero, C., Torres, E. & Abalde, J. (1995). Copper toxicity on the marine microalga *Phaeodactylum tricorutum*: effects on photosynthesis and related parameters. *Aquatic Toxicology*, 31(2), 165-174.
- Corina, P. & Brussaard, D. (2004). Optimization of Procedures for Counting Viruses by Flow Cytometry. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3), 1506-1513.
- Cuesta, A., Esteban, M.A. & Meseguer, J. (1999). Natural cytotoxic activity of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) leucocytes: Assessment by flow cytometry and microscopy. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 71(3-4), 161-171.
- Czechowska, K., Johnson, D.R. & Van der Meer, J.R. (2008). Use of flow cytometric methods for single-cell analysis in environmental microbiology. *Current Opinion in Microbiology*, 11, 205-212.
- Danion, M., Le Floch, S., Kanan, R., Lamour, F. & Quentel, C. (2011). Effects of in vivo chronic hydrocarbons pollution on sanitary status and immune system in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Aquatic Toxicology*, 105(3-4), 300-11.
- Demers, S., Davis, K. & Cucci, T.L. (1989). A Flow Cytometric Approach to Assessing the Environmental and Physiological Status of Phytoplankton. *Cytometry*, 10, 644-652.
- Demers, S., Kim, J., Legendre, P. & Legendre, L. (1992). Analyzing Multivariate Flow Cytometric Data in Aquatic Sciences. *Cytometry*, 13, 291-298.
- Develi, E.E. (2009). Denizel Fitoplanktonun Ekolojik Önemi ve Küresel İklim Değişikliğindeki Rolü. *Mersin Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 5(2), 285-293.
- Donaghy, L., Kim, B.K., Hong, H.K., Park, H.S. & Choi, K.S. (2009). Flow cytometry studies on the populations and immune parameters of the hemocytes of the Suminoe oyster, *Crassostrea ariakensis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 27(2), 296-301.
- Duan, N., Wua, S.J., Yu, Y., Ma, X.Y., Xia, Y. & Chen, X.J. (2013). A dual-color flow cytometry protocol for the simultaneous detection of *Vibrio parahaemolyticus* and *Salmonella typhimurium* using aptamer conjugated quantum dots as labels. *Analytica Chimica Acta*, 804, 151-158.
- Duhamel, S., Gregori, G., Wambeke, F.V., Mauriac, R. & Nedoma, J. (2008). A method for



- analysing phosphatase activity in aquatic bacteria at the single cell level using flow cytometry. *Journal of Microbiological Methods*, 75(2), 269–278.
- Ellsaesser, C.F., Miller, N.W., Cuchens, M.A., Lobb, C.J. & Clem, L.W. (1985). Analysis of Channel Catfish Peripheral Blood Leucocytes by Bright-Field Microscopy and Flow Cytometry. *Transactions of the American Fisheries Society*, 114(2), 279-285.
- Endo, H., Nakayama, J., Ushio, H., Hayashi, T. & Watanabe, E. (1998). Application of flow cytometry for rapid detection of *Lactococcus garvieae*. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 75(2- 3), 295-306.
- Esteban, M.A., Mulero, V., Muñoz, J. & Meseguer, J. (1998). Methodological aspects of assessing phagocytosis of *Vibrio anguillarum* by leucocytes of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) by flow cytometry and electron microscopy. *Cell and Tissue Research*, 293(1), 133-141.
- Esteban, M.Á., Muñoz, J. & Meseguer, J. (2000). Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies. *The Anatomical Record*, 258(1), 80-89.
- Flow cytometry, Guide to flow cytometry 2006. Dako, Carpinteria California, USA. [http://www.dako.com/08065\\_15dec05\\_guide\\_to\\_flow\\_cytometry.pdf](http://www.dako.com/08065_15dec05_guide_to_flow_cytometry.pdf) (Accessed April 18, 2015).
- Goedken, M., De Guise, S. (2004): Flow cytometry as a tool to quantify oyster defence mechanisms. *Fish & Shellfish Immunology*, 16(4), 539-52.
- Hadjoudja, S., Vignoles, C., Deluchat, V., Lenain, J.F., Jeune, A. & Baudu, M. (2009). Short term copper toxicity on *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella vulgaris* using flow cytometry. *Aquatic Toxicology*, 94(4), 255-264.
- Harford, A.J., O'Halloran, K. & Wright, P.F.A. (2006): Flow cytometric analysis and optimisation for measuring phagocytosis in three Australian freshwater fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 20(4), 562-573.
- Haugland, G.T., Rønneseth, A. & Wergeland, H.I. (2014). Flow cytometry analyses of phagocytic and respiratory burst activities and cytochemical characterization of leucocytes isolated from wrasse (*Labrus bergylta* A.). *Fish & Shellfish Immunology*, 39(1), 51-60.
- Hegaret, H., Wikfors, G.H. & Soudant, P. (2003). Flow cytometric analysis of haemocytes from eastern oysters, *Crassostrea virginica*, subjected to a sudden temperature elevation II. Haemocyte functions: aggregation, viability, phagocytosis, and respiratory burst. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 293(2003), 249-265.
- Hibi, K., Ushio, H., Fukuda, H., Mitsubayashi, K., Hayashi, T., Ren, H. & Endo, H. (2008). Immunomagnetic separation using carbonyl iron powder and flow cytometry for rapid detection of *Flavobacterium psychrophilum*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391(4), 1147-1152.
- Inoue, T., Moritomo, T., Tamura, Y., Mamiya, S., Fujino, H. & Nakanishi, T. (2002). A new method for fish leucocyte counting and partial differentiation by flow cytometry. *Fish & Shellfish Immunology*, 13(5), 379-390.
- Ito, K., Ghattas, S., Yanagisawa, M., Uchida, S., Sakail, H. & Yanail, T. (2014). Assessment of Flow Cytometry in Counting Blood of Whale Sharks as a Rapid and Reliable Method. *International Journal of Scientific Research*, 3(12), 389-397.
- Joachimsthal, E.L., Ivanov, V., Tay, J.H. & L. Tay, S.T. (2003). Flow cytometry and conventional enumeration of microorganisms in ships ballast water and marine samples. *Marine Pollution Bulletin*, 46(3), 308-313.
- Kemenade, B., Groeneveld, A., Rens, B. & Rombout, J. (1994). Characterization of macrophages and neutrophilic granulocytes from the pronephros of carp (*Cyprinus carpio*). *Journal of Experimental Biology*, 187, 143-158.
- Korytar, T., Dang Thi, H., Takizawa, F. & Köllner, B. (2013). A multicolour flow cytometry identifying defined leukocyte subsets of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunology*, 35(6), 2017-2019.
- Koumans-van Diepen, J.C.E., Taverne-Thiele, J.J., van Rens, B.T.T.M. & Rombout, J.H.W.M. (1994). Immunocytochemical and

- flow cytometric analysis of B cells and plasma cells in carp (*Cyprinus carpio* L.); an ontogenetic study. *Fish & Shellfish Immunology*, 4(1), 19-28.
- Köllner, B., Fischer, U., Rombout, J.H.W.M., Taverne-Thiele, J.J. & Hansen, J.D. (2004). Potential involvement of rainbow trout thrombocytes in immune functions: a study using a panel of monoclonal antibodies and RT-PCR. *Developmental & Comparative Immunology*, 28(10), 1049–1062.
- Köllner, B. & Kotterba, G. (2002). Temperature dependent activation of leucocyte populations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after intraperitoneal immunisation with *Aeromonas salmonicida*. *Fish & Shellfish Immunology*, 12(1), 35-48.
- Lecommandeur, D., Haffray, P. & Philippe, L. (1994). Rapid flow cytometry method for ploidy determination in salmonid eggs. *Aquaculture and Fisheries Management*, 25, 345-350.
- Lehmann, A.K., Sørnes, S. & Halstensen, A. (2000). Phagocytosis: measurement by flow cytometry. *Journal of Immunological Methods*, 243(1-2), 229-242.
- Lezcano, M., Granja, C. & Salazar, M. (2004). The use of flow cytometry in the evaluation of cell viability of cryopreserved sperm of the marine shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Cryobiology*, 48(3), 349-56.
- Lucasa, R., Courties, C., Herbland, A., Gouletquer, P., Marteau, A.L. & Lemonnier, H. (2010). Eutrophication in a tropical pond: Understanding the bacterioplankton and phytoplankton dynamics during a vibriosis outbreak using flow cytometric analyses. *Aquaculture*, 310(1-2), 112-121.
- MacDonald, G.Z., Hogan, N.S., Köllner, B., Thorpe, K.L., Phalen, L.J., Wagner, B.D. & Heuvel, M.R. (2012). Immunotoxic effects of oil sands-derived naphthenic acids to rainbow trout. *Aquatic Toxicology*, 126, 95-103.
- Manti, A., Papa, S. & Boi, P., (2015). What Flow Cytometry Can Tell Us About Marine Micro-Organisms– Current Status and Future Applications Department of Earth, Life and Environmental Sciences, University of Urbino “Carlo Bo”, Italy, <http://cdn.intechopen.com/pdfs-wm/37421.pdf> (Accessed April 10, 2015).
- Marie, D., Partensky, F., Jacquet, S. & Vaultot, D. (1997). Enumeration and Cell Cycle Analysis of Natural Populations of Marine Pico-plankton by Flow Cytometry Using the Nucleic Acid Stain SYBR Green I. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 1186-193.
- Melamed, M.R. (2001). A Brief History of flow cytometry and sorting. *Methods in Cell Biology* Volume 63, Part A.
- Meyers, S.P. (2000): Developments in Aquatic Microbiology, *International Microbiology*, 3, 203-211.
- Milston, R.H., Vella, A.T., Crippen, T.L., Fitzpatrick, M.S., Leong, J.C. & Schreck, C.B. (2003). In vitro detection of functional humoral immunocompetence in juvenile Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) using flow cytometry. *Fish & Shellfish Immunology*, 15(2), 145-158.
- Mohammed, J.S. (2015). Micro and nanotechnologies in plankton research. *Progress in Oceanography*, 134, 451-473.
- Morgan, J.A.W., Pottinger, T. G. & Rippon, P. (1993). Evaluation of flow cytometry as a method for quantification of circulating blood cell populations in salmonid fish. *Journal of Fish Biology*, 42(1), 131-141.
- Moritomo, T., Serata, K., Teshirogi, K., Aikawa, H., Inoue, Y., Itou, T. & Nakanishi, T. (2003). Flow cytometric analysis of the neutrophil respiratory burst of ayu, *Plecoglossus altivelis*: comparison with other fresh water fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 15(1), 29-38.
- Muñoz-Atienza, E., Araújo, C. Lluch, N., Hernández, P.E., Herranz, C. Cintas, L.M. & Magadán, S. (2015): Different impact of heat-inactivated and viable lactic acid bacteria of aquatic origin on turbot (*Scophthalmus maximus* L.) head-kidney leucocytes. *Fish & Shellfish Immunology*, 44(1), 214-223.
- Newaj-Fyzul, A., Adesiyun, A., Mutani, A., Ramsubhag, A., Brunt, J. & Austin, B. (2007). *Bacillus subtilis* AB1 controls *Aeromonas* infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1699-1706.

- Nogueira, P., Lourenço, J., Rodriguez, E., Pacheco, M., Santos, C., Rotchell, J.M. & Mendo, S., (2009). Transcript profiling and DNA damage in the European eel (*Anguilla anguilla* L.) exposed to 7,12-dimethylbenz[a]anthracene. *Aquatic Toxicology*, 94(2), 123-130.
- Nuding, S. & Zabel, L.T. (2013). Detection, Identification, and Susceptibility Testing of Bacteria by Flow Cytometry. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, S5:005.
- Ormerod, M.G. (2008). Flow Cytometry—A Basic Introduction. <http://flowbook.denovosoftware.com/>
- Ortuno, J., Esteban, M.A. & Meseguer, J. (2000). Kinetics of hydrogen peroxide production during in vitro respiratory burst of seabream (*Sparus aurata* L.) head-kidney leucocytes, as measured by a flow cytometric method. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(8), 725-729.
- Özdemir, H. & Artaç, H. (2013). Akım sitometri ve temel özellikleri. *Selçuk Pediatri*, 1(1), 12-15.
- Pettersen, E.F., Bjerknes, R. & Wergeland, H.I. (2000). Studies of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) blood, spleen and head kidney leucocytes using specific monoclonal antibodies, immunohistochemistry and flow cytometry. *Fish & Shellfish Immunology*, 10(8), 695-792.
- Phalen, L.J., Köllner, B., Leclair, L.A., Hogan, N.S. & Heuvel, M.R. (2013). The effects of benzo[a]pyrene on leucocyte distribution and antibody response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 147, 121-128.
- Rahman, M. (2006). Introduction to flow cytometry. Serotec Ltd. Oxford (UK). Published by Serotec Ltd.
- Rombout, J.H.W.M., Taverne, N., Van de Kamp, M. & Taverne-Thiele, A.J. (1993): Differences in mucus and serum immunoglobulin of carp (*Cyprinus carpio* L.), *Developmental & Comparative Immunology*, 17(4), 309-317.
- Rombout, J.H.W.M., Van diepen, J.C.E.K., Emmer, P.M., Tavernethiele, J.J. & Taverne, N., 1996. Characterization of carp thrombocytes with specific monoclonal antibodies. *Journal of Fish Biology*, 49, 521–531.
- Rønneseth, A., Haugland, G.T. & Wergeland, H.I. (2013). Flow cytometry detection of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) within subpopulations of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) leucocytes after vaccination and during the time course of experimental infection. *Fish & Shellfish Immunology*, 34(5), 1294-305.
- Rose, J.M., Caron, D.A., Sieracki, M.E., Poulton, N. (2004). Counting heterotrophic nanoplanktonic protists in cultures and aquatic communities by flow cytometry. *Aquatic Microbial Ecology*, 34, 263-277.
- Saint-Jean, S.R., Borrego, J.J. & Perez-Prieto, S.I., (2001). Comparative evaluation of five serological methods and RT-PCR assay for the detection of IPNV in fish. *Journal of Virological Methods*, 97, 23-31.
- Sauve, S., Brousseau, P., Pellerin, J., Morin, Y., Senécal, L., Goudreau, P. & Fournier, M. (2002). Phagocytic activity of marine and freshwater bivalves: in vitro exposure of hemocytes to metals (Ag, Cd, Hg and Zn). *Aquatic Toxicology*, 58(3-4), 189-200.
- Seoane, M., Rioboo, C., Herrero, C. & Cid, Á. (2014). Toxicity of three antibiotics used in aquaculture on the marine microalgae *Tetraselmis suecica* (Kylin) Butch. *Marine Environmental Research*, 101, 1-7.
- Shao, J.L., Dabrowski, M.J., White, C.C., Kavanagh, T.J. & Gallagher, E.P. (2010). Flow cytometric analysis of BDE 47 mediated injury to rainbow trout gill epithelial cells. *Aquatic Toxicology*, 97(1), 42-50.
- Shapiro, H.M. (2003). Practical Flow Cytometry. 4th Edition, Wiley-Liss, New York.
- Shelley, L.K., Balfry, S.K., Ross, P.S. & Kennedy, C.J. (2009). Immunotoxicological effects of a sub-chronic exposure to selected current-use pesticides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 92(2), 95-103.
- Stosik, M., Deptula, W., Wiktorowicz, K., Travnicek, M. & Baldy-Chudzik, K. (2002). Respiratory burst in neutrophilic granulocytes of carps (*Cyprinus carpio*): cytometric studies. *Veterinary Medicine - Czech*, 47(1), 17-20.

- Taylor, S., Landman, M.J. & Ling, N. (2009). Flow Cytometric Characterization of Freshwater Crayfish Hemocytes for the Examination of Physiological Status in Wild and Captive Animals. *Journal of Aquatic Animal Health*, 21(3), 195-203.
- Thorgaard, G.H., Rabinovitch, P.S., Shen, M.W., Galla, G.A.E., Propp, J. & Utters, F.M. (1982). Triploid Rainbow Trout Identified By Flow Cytometry. *Aquaculture*, 29, 305-309.
- Thuvander, A., Norrgren, L. & Fossum, C. (1987). Phagocytic cells in blood from rainbow trout, *Salmo gairdneri* (Richardson), characterized by flow cytometry and electron microscopy. *Journal of Fish Biology*, 31(2), 197-208.
- Troussellier, M., Courties, C. & Vaquer, A. (1993). Recent applications of flow cytometry in aquatic microbial ecology. *Biology of the Cell*, 78(1-2), 111-121.
- Tung, J.W., Heydari, K., Tirouvanziam, R., Sahaf, B., Parks, D.R. & Herzenberg, L.A. (2007). Modern Flow Cytometry: A Practical Approach. *Clinics in Laboratory Medicine*, 27(3), 453-468.
- Valet, G. (1984). A new method for fast blood cell counting and partial differentiation by flow cytometry. *Blut*, 49(2), 83-90.
- Veldhuis, M.J.W. & Kraay, G.W. (2000). Application of flow cytometry in marine phytoplankton research: current applications and future perspectives. *Scientia Marina.*, 64(2), 121-134.
- Vives-Rego, J., Lebaron, P., & Nebe-von Caron, G. (2000). Current and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. *FEMS Microbiology Reviews*, 24(4), 429-48.
- Wang, Y., Hammes, F., Roy, K.D., Verstraete, W., & Boon, N. (2010). Past, present and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. *Trends in Biotechnology*, 10, 28(8), 416-24.
- Wu, Y., Zeng, Y., Qu, J.Y., & Wang W. (2012). Mercury effects on *Thalassiosira weissflogii*: Applications of two-photon excitation chlorophyll fluorescence lifetime imaging and flow cytometry. *Aquatic Toxicology*, 110-111, 133-140.
- Xian, J.A., Wang, A.L., Hao, X.M., Miao, Y.T., Li, B., Ye, C.X., & Liao, S.A. (2012). In vitro toxicity of nitrite on haemocytes of the tiger shrimp, *Penaeus monodon*, using flow cytometric analysis. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 156(2), 75-9.
- Xian, J.A., Wang, A.L., Miao, Y.T. & Li, B. (2013): Flow cytometric analysis of in vitro cytotoxicity of cadmium in haemocytes from the tiger shrimp, *Penaeus monodon*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 90(1), 46-50.
- Yentsch, C.M., Horan, P.K., Muirhead, K., Dortch, Q., Haugen, E., Legendre, L., Murphy, L.S., Perry, M.J., Phinney, D.A., Pomponi, S.A., Spinrad, R.W., Wood, M., Yentsch, C.S., & Zahuranec, B.J. (1983). Flow cytometry and cell sorting: A technique for analysis and sorting of aquatic particles. *Limnology and Oceanography*, 28(6), 1275-1280.



# Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

ORIGINAL ARTICLE/ORIJINAL ÇALIŞMA

FULL PAPER

TAM MAKALE

## BEHAVIORAL AND PHYSIOLOGICAL STRESS RESPONSES OF Java barb (*Barbonymus gonionotus*) TO ENVIRONMENTAL SALINITY CHALLENGE

**Fahima Binte AMIN, Tania FARHANA, Golam Mohammad MOSTAKIM,  
Md. Mahiuddin ZAHANGIR, Mahbuba Monir MISHU, M. Sadiqul ISLAM**

Department of Fisheries Biology & Genetics Bangladesh Agricultural University Mymensingh-2202, Bangladesh

**Received:** 02.07.2015

**Accepted:** 15.12.2015

**Published online:** 22.06.2016

**Corresponding author:**

**M. Sadiqul ISLAM**, Department of Fisheries Biology & Genetics Bangladesh Agricultural University Mymensingh-2202, Bangladesh

**E-mail:** [sadiqul1973@yahoo.com](mailto:sadiqul1973@yahoo.com)

### Abstract:

Salinity impose stress on the physiology of the exposed freshwater fish population can modify their structure. In this study some indicators of behavioral and physiological stress responses were examined during exposure of Java barb (*Barbonymus gonionotus*) to different saline concentrations. Based on the result of median lethal salinity level (LC<sub>50</sub>) (12.9ppt), one sub-lethal (12ppt) and two lethal salinity levels (14ppt and 16ppt) were selected to study the acute stress responses of fish for a period of 72h. A number of physiological responses, such as disturbance in body fluid, alterations of blood biochemical and hematological parameters and behavioral responses were detected with increasing ambient salinity. Fish exposed to different sub-lethal and lethal salinities exhibited clinical signs agitated behavior, respiratory distress, abnormal nervous behavior and death were recorded. From the present investigation, it was observed that higher salinity may affect the physiological and behavioral stress responses in freshwater fish.

**Keywords:** Behavior, Freshwater fish, Physiology, Salinity, Stress



## Introduction

Environmental changes in organisms are always associated with a number of physiological responses. Theoretically these responses can be measured in fish and in other vertebrates in the form of changes in hormonal or substrate concentration in the plasma or alterations in the blood parameters (Donaldson, 1981). Salinity is an important factor in the environmental condition of fish by influencing osmotic pressure and metabolism (Mustafayev and Mekhtiev, 2008); causing changes physiological functions, habits, and survival of fish (Wang and Zhu, 2002).

Fish species which inhabits only the freshwater environments may be extinct in the coastal areas due to saltwater intrusion and increase of the salinity. As compared to terrestrial inhabitants, fish and other aquatic creatures are subject to a broader variety of stressors because their homeostatic mechanisms are highly dependent on prevailing conditions in their immediate surroundings. Examples of additional stressors for aquatic animals other than terrestrial animals include fluctuations in water salinity, pH, hardness, alkalinity, dissolved solids, water level or current, and exposure to waterborne pathogens or toxicants. Being an aquatic animal the fish have to face various stressors and have to cope with regular and unexpected fluctuation of different water parameters to survive, and adapt physiologically with alteration and modification of different organs and its behavior (Jasmin, 2013).

Java barb (*Barbonymus gonionotus*) a stenohaline freshwater fish species which was native to Asia but now spread worldwide and colonized in various environments was used in the experimental stages of the study. It can tolerate a range of different salinities from freshwater up to 13 ppt (BFRI, 1993), but the behavioral and physiological mechanisms that underlie the salinity tolerance of freshwater species are not well understood. The present study examines the possible effects that osmoregulatory processes can have on the behavioral and physiological responses in Java barb that are subjected to increasing levels of environmental salinity.

## Materials and Methods

Healthy and moderate sized ( $8.02 \pm 1.44$ cm and  $5.51 \pm 1.16$ g) Java barb (*B. gonionotus*) were collected from the local fish farm (Digarkanda,

Mymensingh) and reared in the cemented rectangular tank and allowed to acclimatize to the laboratory conditions for 15 days to remove the suspected unhealthy subjects (handling and transportation stress) at 24-25°C. A total of 280 individuals were randomly assigned. Fishes were fed twice a day with zooplankton (enriched with *Daphnia*, *Keratella*, etc.) and commercial dry pellets (Krishibid Fish Feed Ltd.). The fishes were considered well adapted to laboratory conditions when mortality was recorded less than 1% during acclimatization period of 15 days. Fish of both sexes were used without discrimination.

The different levels of salinity concentrations used were achieved by serial dilution of brine water (150 ppt) with dechlorinated tap water, to get the desired concentrations. Pre-acclimatized fish were directly exposed to the different salinity levels (0, 2, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15 and 16ppt) for range finding test and determination of LC<sub>10-100</sub> by static bioassay. The OECD Directive No. 203 (1992) 'Fish, acute toxicity test' was followed for the toxicity assay. Aeration was applied to the aquaria (45×30×30 cm<sup>3</sup>) in order to obtain a homogeneous concentration of salt and to maintain standard DO concentration. Several inspections were made during the experimental period and dead fish if any, were removed immediately. Fish were considered as dead when respiratory movement of the opercula stopped and there was no response to touch. The salinity concentrations below the median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) value and above the LC<sub>50</sub> values were considered as sub-lethal and lethal salinity concentrations, respectively.

To observe the behavioral stress responses, fish were exposed to tap water (dechlorinated) (0ppt) and considered as control, one sub-lethal concentration (12ppt) and two lethal concentrations (14ppt and 16ppt) of salinity for 72h. The abnormal stress behaviors were observed by visual assessment as suggested by Aysel and Ayhan (2010). Behavioral responses of fish such as convulsions, equilibrium status or imbalance, fin movement, hyperactivity and swimming rate were observed. Some other behavioral criteria were also observed as stress responses such as shoaling, body and eye color etc. Behavioral stress responses were observed at different time intervals (2, 4, 6, 12, 24, 48, 72h) and scored as 0

to 5 (very weak, weak, moderate, strong, and very strong) according to degree of responses.

To obtain blood samples, fish were caught gently in a small scoop net and then quickly taken out from the water and fish were anaesthetized by 5mg/l of clove oil to avoid any handling stress in order to minimize an error in normal blood values. Blood was obtained from the renal artery by cutting off the tail peduncle. Blood glucose was measured by using a digital blood glucose kit. A drop of blood sample was placed on the strips connected to the GLUCOLAB™ Auto-coding blood glucose test meter and results were recorded. The values were expressed in mmol/l. Hematological analyses were carried out by standard methods suggested by Blaxhall and Daisley (1973). To examine red blood cell (RBC) and white blood cell (WBC) counts, collected blood was gently pushed into sterilized eppendorf tubes containing anticoagulant (EDTA) to give a final concentration of 5mg EDTA per cm<sup>3</sup> blood. Blood samples were mixed gently and counts were made using a Neubauer hemocytometer.

Dehydration of fish body was measured to observe the effect of the sub-lethal and lethal concentrations of salinity. Weights were recorded from the beginning to end of the experiment at different time intervals (0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72h).

Median lethal concentration (LC<sub>50</sub>) values were calculated from the data obtained in acute toxicity bioassays, by Finney's (1971) method of "probit analysis". The data were subjected to an analysis of variance (ANOVA), followed by comparison of means using Tukey's HSD test to determine significance of each data treatment. In addition, the significance of differences of the values of RBC and WBC were determined by using "t test". Significant differences were indicated by P-values <0.05. All statistical analyses were performed using SPSS16.0.

## Results and Discussion

### Median concentration (LC<sub>50</sub>)

A study was carried out to find the range of salinity tolerance of Java barb from 0ppt to 16ppt. There was no mortality observed up to 10ppt but

almost 100% mortality was observed at 16ppt in 72h exposure period. Based on range finding test the LC<sub>50</sub> of salinity for Java barb was determined between 10ppt and 16ppt. At salinity concentration of 11ppt 20% mortality and at 13ppt 50% mortality was found, 100% mortality was occurred at 16ppt. Probit analysis showed that the LC<sub>50</sub> of the fishes was about 12.90ppt.

### Lethal and sub-lethal effects of salinity on behavioral stress responses

The fish exhibited a normal behavioral activity without mortality when exposed to 0ppt. At sub-lethal concentration of salinity (12ppt) a low stress responses were noticed like aggression, stunned posture, erratic swimming etc. Stress responses like impatience or agitated activeness or erratic movement observed at lethal concentrations (14ppt and 16ppt) (Table 1, Figure 1). At the beginning of experiment (up to 3 hours) the fish showed frequent movement from surface to bottom, then aggression and sometime showed jumping activity at the lethal concentrations of salinity. They also expressed highly increased opercular movements accompanied by excessive secretion of mucus which indicates the respiratory distress. Fish were scattered here and there. Then the fish became very weak with a fade and gloomy body and eye color, settled at the bottom and finally died.

### Effects of salinity on biochemical and hematological parameters

Variations on the biochemical parameter such as blood glucose levels at both treatments (6.5ppt, 50% of LC<sub>50</sub> and 9.68ppt, 75% of LC<sub>50</sub>) were found to be increased within an hour and highest about from 6-12h. Then glucose level gradually decreased and got back to its original states within 24h (Figure 2). A significant (P<0.05) decrease of RBC values were registered up to 24h in fish that were exposed to sub-lethal salinities (6.5ppt and 9.68ppt) compared to control (0ppt) group (Figure 3). On the other hand, the pattern was different for WBCs: values showed a significant increase up to 24h in a salinity of 9.68ppt (75% of LC<sub>50</sub>), but subsequently returned to normal values within 72h as in the control group (Figure 4).

**Table 1.** Behavioral and clinical signs of Java barb after exposure 72h to different salinities

Behavioral signs	Clinical signs	Salinity (ppt)			
		0	12	14	16
Agitated behavior	Aggression	0	1	1	5
	Jumping	0	0	3	5
	SP	0	2	3	3
	FSBM	0	0	2	4
	ES	0	1	3	3
Respiratory distress	OM	0	0	2	4
	AG	0	0	4	5
	VPES	0	0	3	5
	EMS	0	0	3	5
Abnormal nervous behavior	SSM	0	1	2	4
	SM	0	2	4	4
	SD	0	0	3	5
	DP	0	0	4	3
	Death	0	0	3	5

Air gulping (AG), erratic swimming (ES), frequent surface to bottom movements (FSBM), vertical posture with exposed snouts (VPES), excessive mucus secretion (EMS), sluggish and swirling movements (SSM), state of motionless (SM), sudden darts (SD), different postures (DP), opercula movement (OM), stunned posture (SP); none (0), very weak (1), weak (2), moderate (3), strong (4), very strong (5)

### Lethal and sub-lethal effects of salinity on osmotic challenge

In this study lethal and sub-lethal effect of salinity on the osmotic change was determined by observing variations of body weight of exposed fish to different salinity concentrations (Figure 5). At 12ppt, a gradual and slow decrease of weight was noticed up to 12h of exposure and within 24h body weight got back to its original state. On the other hand, at lethal concentrations of a sudden decrease of average weight (body fluid reduced up to 19%) of fish were recorded at the beginning hours of exposure. Then the weight decreased gradually and got back to its original state (Figure 5a, b).

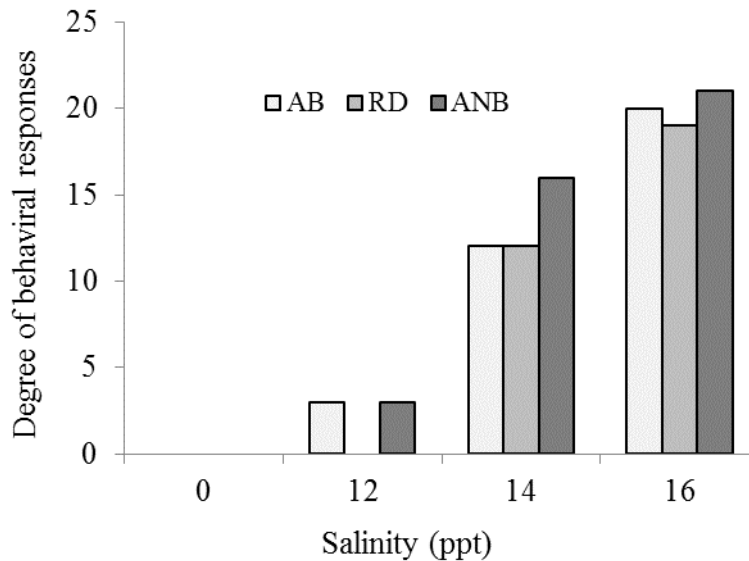
The stress response of a freshwater Java barb to different salinity concentrations was evaluated using the levels of biochemical and hematological parameters of blood and behavior as indicators. Aquaculture urges for more accurate information on stress control, in order to be assured of good health status of fish, especially those transferred to a new environment. Environmental salinity fluctuation can act a stressor and leads to give information on behavioral and physiological responses.

Behavioral endpoints serve as valuable tools to distinguish and evaluate effects of exposure to environmental stressors, and fish behavioral alterations can provide important indices for ecosystem assessment (Kane *et al.*, 2005). Throughout the study period fish exhibited low behavioral stress responses when exposed to sub-lethal concentration of salinity (12ppt). Impatience or agitated activeness or erratic movements were observed when exposed to lethal concentrations (14ppt and 16ppt). From the beginning up to 3 hours of the lethal salinity exposure fish showed frequent movement from surface to bottom, aggression and sometime showed jumping activity. In addition, fish expressed highly increased opercular movements accompanied by excessive secretion of mucus which indicating respiratory distress of fish. Lawson and Anetekhai (2011) and Aysel and Ayhan (2010) also noted similar behavioral stress responses after exposing fish in higher salinities.

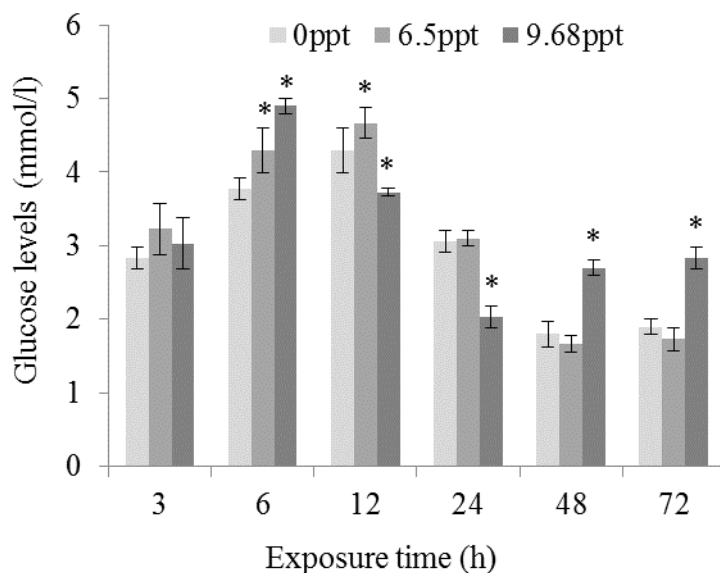
The osmotic gradient between the plasma and the environment is reduced in freshwater fishes when exposed to increase salinity. Kilambi and Zdinak (1980) stated decreasing survival rates with increasing salinity is characteristics of freshwater stenohaline fish, and it has been postulated that this is due to increasing osmotic pressures at

higher salinities. In the present study a gradual and slow weight loss was noticed within 1-3 h of sub-lethal salinity exposure whereas at lethal concentrations a rapid decrease of weight was observed and then the weight increased gradually. Similar trend also reported by Augley *et al.* (2008) and Maceina and Shireman (1979). Norton and Davis (1977) suggested that the major limiting factor affecting the survival of freshwa-

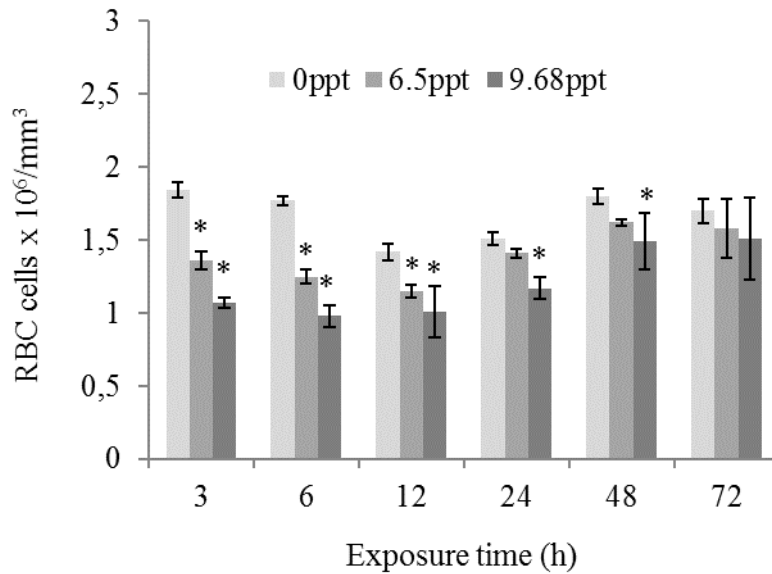
ter fish in saltwater is the absence of efficient branchial and renal mechanisms that can readily adjust to hypertonic media. This inability to adjust to increase salinity results in increased electrolyte concentrations and osmotic stress (Furspan *et al.*, 1984) which causes an increase in osmotic pressure and deterioration of cell function.



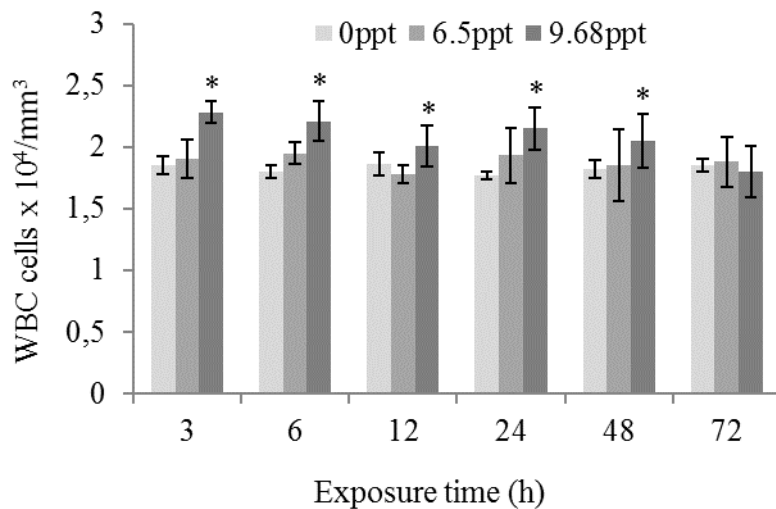
**Figure 1.** Degree of behavioral stress responses of Java barb at different salinity levels (AB= agitated behavior, RD= respiratory distress and ANB= abnormal nervous behavior)



**Figure 2.** Sub-lethal effects of salinity on blood glucose levels at different time intervals in Java barb. Values are means  $\pm$  SD. Asterisk (\*) indicates significant difference at P<0.05. N = 5 fish at each salinity



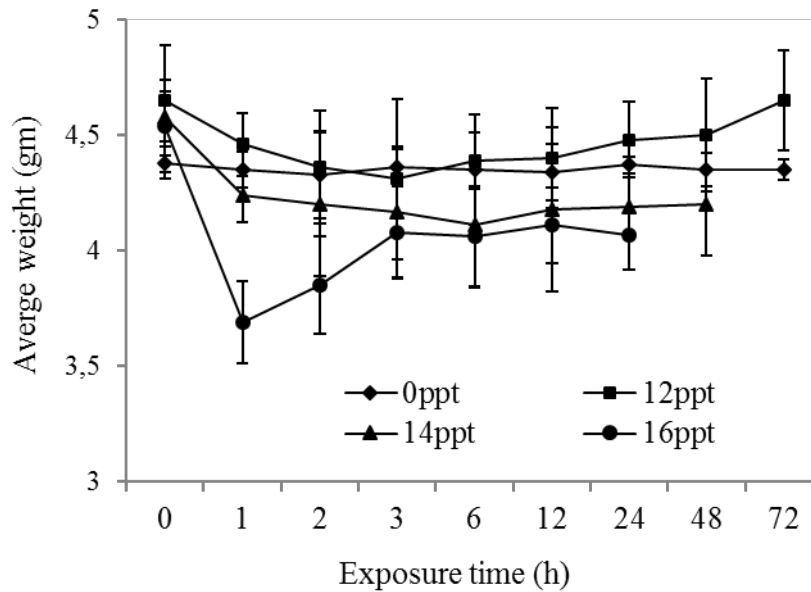
**Figure 3.** Effects of sub-lethal exposure of salinity on RBC levels at different time intervals in Java barb. Values are means  $\pm$  SD. Asterisk (\*) indicates significantly different (one-way analysis of variance,  $P < 0.05$ ,  $N = 5$  fish at each salinity)



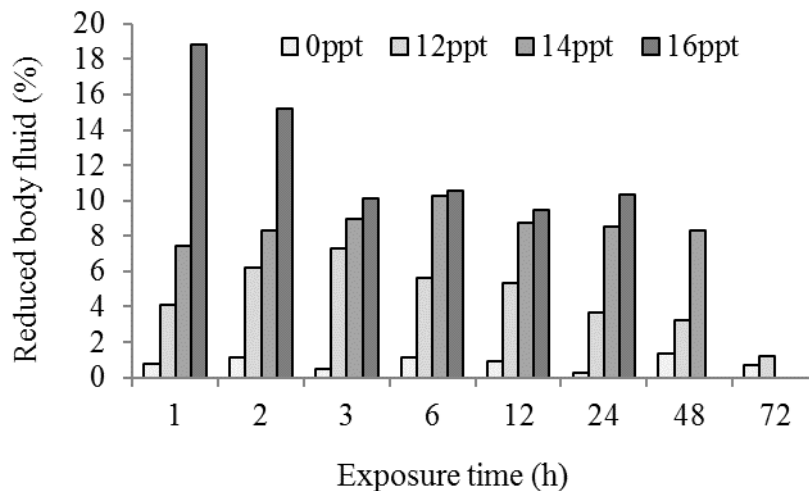
**Figure 4.** Effects of sub-lethal exposure of salinity on WBC levels at different time intervals in Java barb. Values are means  $\pm$  SD. Asterisk (\*) indicates significantly different (one-way analysis of variance,  $P < 0.05$ ,  $N = 5$  fish at each salinity)



(a)



(b)



**Figure 5.** a) Hydration levels and b) percentage of reduced body fluid of fishes during exposure to sub-lethal and lethal concentrations of salinity for a period of 72h. Values are means  $\pm$  SD.  $N = 5$  fish at each salinity.

The significant decrease in RBC counts at sub-lethal concentration might be due to haemolysis and shrinkage of blood cells by the effects of salinity. The reduction in the RBC counts of Java barb following exposure to salinity indicated a reduced blood oxygen carrying capacity (Das *et al.*, 2006). In the context of distortion and lysis of

certain RBC cells as observed at sub-lethal treatments, the reduced blood oxygen carrying capacity can be compensated either through increasing oxygen affinity and capacity of hemoglobin and/or increase in RBC production (Das *et al.*, 2006).

An increased WBC counts established leukocytosis, which is considered to be an adaptive value for the tissue under environmental stress. The increase in WBC count at sub-lethal concentrations can be correlated with an increase in antibody production which helps in survival and recovery of the fish exposed to toxicants (Joshi *et al.*, 2002). This also helps in the removal of cellular debris of necrosed tissue at a faster rate (John, 2007). As a protective response of the body during stress, WBC increases through stimulation of leukopoietic process and enhanced release of leukocytes to the blood circulation. The released catecholamines, adrenaline and nor-adrenaline, increase the conversion of liver glycogen to blood glucose to satisfy the greater energy demands of the body to stress (Begg and Pankhurst, 2004). The variation of the WBC and increased blood glucose levels in the present study indicated elevated stress levels in the Java barb which were most likely due to the disturbance in the acid-base balance, respiratory homeostasis and ionic regulation during exposure to sub-lethal salinity. Consistent supports to the above with several results which showed a significant increase in the WBC (Akinrotimi *et al.*, 2012; Far *et al.*, 2012; Geetha, 2014).

## Conclusion

The present study which aimed to mimic of fluctuating salinities, has shown that short-term exposure of fish to salinities as high as 14ppt led to extreme physiological disturbances as revealed in changes observed in their behavioral and physiological characteristics. From the overall study the perceptible concern might be that the Java barb can tolerate a definite range of salinity level without being affected significantly, but extreme changes in salinity may cause some effects on physiology and behavior of the fish.

## References

- Akinrotimi, O.A., Agokei, E.O. & Aranyo, A.A. (2012). Changes in blood parameters of *Tilapia Guineensis* exposed to different salinity levels. *Journal of Environmental Engineering and Technology*, 1(2), 4-12.
- Atamanalp, M., Yanik, T., Haliloglu, H.I. & Aras, M.S. (2002). Alterations in the hematological parameters of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to cypermethrin. *Israeli Journal of Aquaculture, Bamidgah*, 54, 99-103.
- Augley, J., Mark, H., Teresa, F.F. & Alastair, R.L. (2008). The effect of salinity on growth and weight loss of juvenile plaice (*Pleuronectes platessa*, L): An experimental test. *Journal of Sea Research*, 60(4), 292-296.
- Aysel, C.K.B. & Ayhan, O. (2010). Acute toxicity and histopathological effects of sub-lethal fenitrothion on Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Journal of Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97, 32-35.
- Bani, A. & Vayghan, A.H. (2011). Temporal variation in haematological and biochemical indices of the Caspian kutum, *Rutilus frisii kutum*. *Ichthyological Research*, 58, 126-133.
- Begg, K. & Pankhurst, N.W. (2004). Endocrine and metabolic responses to stress in a laboratory population of the tropical damselfish *Acanthochromis polyacanthus*. *Journal of Fish Biology*, 64, 133-145.
- BFRI (1993). Research Progress Report 1986-1993 edited by M. A. Mazid, M. J. Alam, M. E Hoq and R. Begum. 136 pp
- Blaxhall, P.C. & Daisley, K.W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood. *Journal of Fish Biology*, 5, 771-781.
- Das, P.C., Ayyappan, S. & Jena, J. (2006). Haematological changes in the three Indian major carps, *Catla catla* (Hamilton), *Labeo rohita* (Hamilton) and *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) exposed to acidic and alkaline water pH. *Aquaculture*, 235(1-4), 633-644.
- Donaldson, E.M. (1981). The pituitary-interrenal axis as an indicator of stress in fish. In *Stress and Fish* (ed. AD Pickering), pp. 11-41. New York, London: Academic Press
- Far, M.S., Roodsari, H.V., Zamini, A., Mirra-sooli, E. & Kazemi, R. (2012). The effects of diazinon on behavior and some hematological parameters of fry Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *World Journal of Fish and Marine Sciences*, 4(4), 369-375.
- Finney, D.J. (1971). Probit Analysis. Univ. Press, Cambridge, p. 333.
- Furspan, P., Prange, H.D. & Greenwald, L. (1984). energetics and osmoregulation in the catfish *Ictalurus nebulosus*, *I. punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 77, 773-778.

- Geetha, S. (2014). Studies on the effects of water pH changes on hematological parameters in *Gerres filamentosus* (Cuvier). *International Journal of Environmental Sciences*, 4(5), 983-986.
- Iwama, G.K., Vijayan, M.M., Forsyth, R.B. & Ackerman, P.A. (1999). Heat shock proteins and physiological stress in fish. *American Zoologist*, 3, 901-909.
- Jasmin, B.M. (2013). Structural changes in the kidney of *Barbus sharpeyi* (cyprinidae) young adapted to brackishwater. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 8(4), 357-363.
- John, P.J. (2007). Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33, 15-20.
- Joshi, P.K., Harish, D., Bose, M. (2002). Effect of lindane and malathion exposure to certain blood parameters in a fresh water teleost fish *Clarias batrachus*. *Pollution Resources*, 21(1), 55-57.
- Kane, A.S., Salierno, J.D. & Brewer, S.K. (2005). Fish models in behavioral toxicology: Automated techniques, updates and perspectives. In: Ostrander, GK, editor. *Methods in Aquatic Toxicology*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL 2, 559-590.
- Kilambi, R.V. & Zdinak A (1980) The effects of acclimation on the salinity tolerance of grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Cuv. and Val.) *Journal of Fish Biology*, 16, 171-175.
- Lawson, E.O. & Anetekhai, M.A. (2011). Salinity tolerance and preference of hatchery reared Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Asian Journal of Agricultural Science*, 3, 104-110.
- Lucas, A. (1996). Physical concepts of bioenergetics. In: *Bioenergetics of Aquatic Animals*, Lucas A. (Editor). English Edition. Taylor and Francis, France
- Maceina, M.J. & Shireman, J.V. (1979). Grass carp: Effects of salinity on survival, weight loss, and muscle tissue water content. *Progressive Fish Culture*, 41, 69-73.
- Mustafayev, N.J. & Mekhtiev, A.A. (2008). Changes of the serotonergic system activity in fish tissues during an increase of water salinity. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 44(1), 69-73.
- Norton, V.M. & Davis, K.B. (1977). Effect of abrupt change in the salinity of the environment on plasma electrolytes, urine volume and electrolyte excretion in channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 56, 425-431.
- OECD 203 (1992). 'Fish, acute toxicity test'. [www.oecd.org/dataoecd/17/20/1948241](http://www.oecd.org/dataoecd/17/20/1948241)
- Reid, S.G., Bernier, N.J. & Perry, S.F. (1998). The adrenergic stress response in fish: control of catecholamine storage and release. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 120, 1-27.
- Wang, Y.F. & Zhu, X.H. (2002). A review on impact of salinity on patterns of fish eco-physiology. *Studia Marina Sinica*, 44, 151-158.

## A PRELIMINARY HISTOLOGICAL STUDY ON OVARIUM DEVELOPMENT IN MIRROR CARP AND SCALED CARP (*Cyprinus carpio* L., 1758) INTRODUCED INTO GELİNGÜLLÜ RESERVOIR, TURKEY

Belda ERKMEN<sup>1</sup>, Şerife Gülsün KIRANKAYA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Aksaray University, Faculty of Science and Letters, Department of Biology, Aksaray, 68100, Turkey

<sup>2</sup>Düzce University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Konuralp Campus, Düzce, 81620, Turkey

Received: 16.12.2015

Accepted: 02.03.2016

Published online: 29.07.2016

Corresponding author:

Şerife Gülsün KIRANKAYA, Düzce University, Faculty of Arts and Sciences, Department of Biology, Konuralp Campus, Düzce, 81620, Turkey

E-mail: [gkirankaya@gmail.com](mailto:gkirankaya@gmail.com)

### Abstract:

Carp (*Cyprinus carpio*) is the most common species of the Cyprinidae family and is among the important species commercially caught in the Gelingüllü Reservoir, Yozgat, Turkey. In this study, the reproductive biology of mirror carp and scaled carp in Gelingüllü Reservoir was studied in terms of the gonadosomatic index (GSI), fecundity, and ovarian histology. Ovaries were classified into 5 maturity stages based on histological data, as follows: 1. Chromatin-nucleolus stage (oocyte diameter is 20-60 µm); 2. Peri-nucleolar stage (oocyte diameter is 60-200 µm); 3. Cortical alveolar stage (oocyte diameter is 200-600 µm); 4. Vitellogenic stage (oocyte diameter is 600-1000 µm); 5. Maturation stage (oocyte diameter is 1000-1400 µm). When ovulation was completed, post-ovulatory follicles and atretic follicles were noted in the ovaries. The spawning period in both populations extended from April to July, but peak-spawning activity occurred in April and May. Absolute fecundity reached 2.133 million eggs in mirror carp and 1.628 million eggs in scaled carp. Ovaries that contained both yolk stage oocytes and postovulatory follicles indicated that carp is a multiple spawner. Histological analysis in the present study showed that female mirror carp and scaled carp had

mature eggs that contributed to sustaining the both populations in Gelingüllü Reservoir.

**Keywords:** *Cyprinus carpio*, Spawning season, Fecundity, Gonadal development, Gelingüllü Reservoir, Introduced fish



## Introduction

As the human population continues to increase the world is faced by significant nutritional challenges. As such, the importance of inland fisheries in natural and artificial lakes in meeting human nutritional requirements and providing employment opportunities is increasing (Welcomme, 2001). Today, carp (*Cyprinus carpio*) is one of the valuable species for inland fisheries and aquaculture settings in many countries; therefore, it is widely introduced into natural lakes and reservoirs throughout the world (Kottelat and Freyhof, 2007). Governmental organizations are responsible for fish introductions into lakes and reservoirs in Turkey in order to support inland fisheries. Until recent time, two domestic forms of common carp -mirror carp and scaled carp- have been the most preferred fish for introduction programs in Turkey.

The carp (*C. carpio*) is the most common species of the Cyprinidae family and it is commonly found in warm, still or slowly flowing waters, especially in well vegetated lakes (Kottelat and Freyhof, 2007). Several studies on biology of carp have been previously undertaken in several region including Turkey, and they have mainly focused on life-history properties and yield assessment (e.g: Hulata et al., 1974; Karakoç and Sarıhan, 1987; Fernandez-Delgado, 1990; Vilizzi and Walker, 1999; Karataş, 2000; Balık and Çubuk, 2001; Kirankaya and Ekmekçi, 2013; Vilizzi et al., 2015). Studies of fish reproduction often favour commercial or valuable fish species such as carp (Smith and Walker, 2004). Crivelli (1981) studied maturation and spawning of carp in southern France and Jankovic (1971) examined oogenesis of carp from Lake Skadar. Histological interpretation of ovarian development is one of the most favourable studies in fish populations, since histological examinations provide details within the maturation cycles (Sivakumaran et al., 2003). However, limited information is available on histological development of carp gonads, especially of carp introduced into artificial lakes and ponds. Gupta (1975) examined development of carp gonads in warm water aquaria under controlled conditions, but some other researchers (e.g. Dubost et al., 1997; Sivakumaran et al., 2003; Smith and Walker, 2004) histologically assessed the development of carp gonads in natural environments. Although histological studies may highlight vulnerable aspects of the reproductive biology of commercially valuable intro-

duced fish such as carp, there is no study about histological development of gonad of carp in Turkey.

The carp is among the important species commercially caught in the Gelingüllü Reservoir, Yozgat, Turkey. The Gelingüllü Reservoir is located in Central Anatolia (35°03'2" E, 39°36'30"N, 1050 m a.s.l) and is the result of the dam that was completed on the Delice River, tributary of the Kızılırmak River at the end of 1993. During some summer periods, there has been a significant decrease in the water level of the reservoir, which was built in order to provide an agricultural water supply in an arid region. After completing the dam, the State Hydraulic Works (DSI) introduced mirror carp into the reservoir in 1994 and replenished the stock in subsequent years in order to advance commercial fishery in the region. The reproductive success of mirror carp in the harsh continental climate of the region was considered doubtful, as the species is a warm water culture form; therefore, scaled carp were introduced into the reservoir beginning in September 2000 as a candidate species for fishery enhancement.

The present study aimed to describe the reproductive pattern of mirror and scaled carp populations introduced into Gelingüllü Reservoir. We examine trends in gonadosomatic index, fecundity and gonad histology to better understand their reproductive biology. We use these to identify the potential of both populations to establish self-sustaining populations in Gelingüllü Reservoir.

## Materials and Methods

Sampling was performed between March and November 2006. In total, 64 mirror carp and 51 scaled carp were caught using gill nets with mesh ranging in size from 20 × 20 mm to 100 × 100 mm. Total length (TL) and fork length (FL) were measured to the nearest 0.5 cm and total body weight (W) was recorded to the nearest 0.01 g. Fish samples were dissected for sex determination, and ovaries were removed and weighed to the nearest 0.01g. For histological analysis samples obtained from the middle part of each ovary were fixed in 10% formalin.

Monthly changes in water temperature were monitored. While the water temperature varied between 8 and 10 °C in the first 5 m below the

surface in the spring, it can increase to 20 °C during summer.

The spawning season of mirror and scaled carp was investigated by using monthly variation in the mean GSI and ovarian maturity stages. Temporal changes in gonad development were determined based on the gonadosomatic index (GSI) and the following equation:  $GSI = (GW/W) \times 100$ , where GW is gonad weight and W is total body weight. ANOVA was used to determine the significance of difference in the GSI by month.

The absolute fecundity (AF) was estimated as  $AF = W_G \times D$ , where  $W_G$  is gonad weight and D is number of the oocytes per gram of ovarian tissue (Begenal and Braum, 1971).

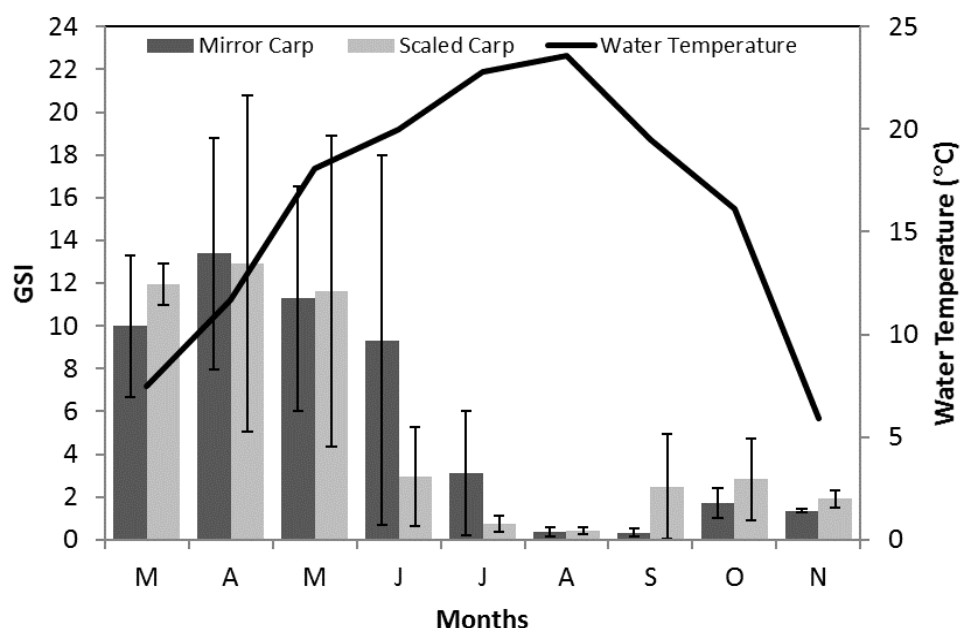
For histological examination the ovary parts that were fixed in 10% formalin were washed in running water and stored in 70% alcohol until sectioning. In all, 115 female gonads were histologically examined. A transverse section from the central part of each gonad was dehydrated in alcohol, embedded in paraffin, and subsequently sectioned transversely to 5-7  $\mu\text{m}$  using a microtome. The sections were fixed on glass slides with distilled water and stained using hematoxylin and eosin (H&E) (Culling et al., 1985; Roberts, 2001). Ovary developmental staging was based on the terminology proposed by West, 1990 and Wallace and Selman, 1981.

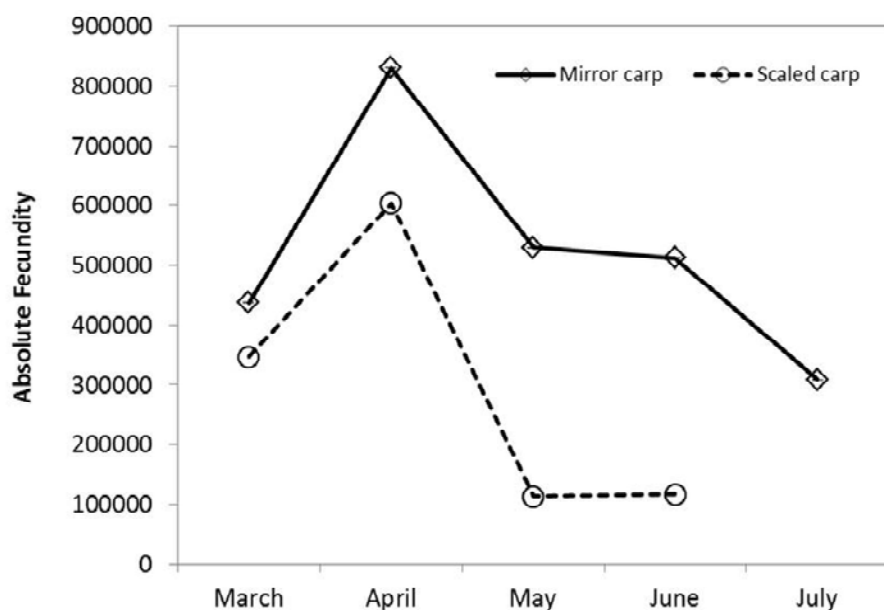
In total, 64 mirror carp and 51 scaled carp specimens were collected, with FL ranging from 29.7 cm to 71.5 cm (SD = 13.23) and 26.3 cm to 57 cm (SD= 8.17), respectively. Body weight of the specimens varied from 897 g to 12,500 g (SD = 2497) in mirror carp and 555 g to 4220 g (SD = 900) in scaled carp.

GSI differed significantly both in mirror and scaled carp according to the month they were collected (ANOVA:  $F = 2.46$ ,  $p < 0.05$  for mirror carp;  $F = 4.61$ ,  $p < 0.05$  for scaled carp). Monthly variation in mean GSI is shown in Figure 1. Mean GSI in mirror and scaled carp was 10 and 11.9, respectively, in March, peaked at 13.38 in mirror carp and 12.92 in scaled carp in April, and then gradually decreased to 0.37 and 0.42, respectively, in mirror carp and scaled carp in August. These data show that mirror carp had a prolonged breeding period - observed from April to August - whereas scaled carp spawned between April and July.

Absolute fecundity (AF) reached 2,133,990 in mirror carp and 1,628,526 in scaled carp. Mean AF ranged from 308,713 to 830,297 in mirror carp and 116,540 to 604,031 in scaled carp (Figure 2). AF in mirror carp was significantly higher than in scaled carp (ANOVA:  $F = 2.84$ ,  $P < 0.05$ ). No mature eggs were observed in the gonads of scaled carp in July or mirror carp in August.

## Results and Discussion



**Figure 1.** Monthly variation in gonadosomatic index of mirror carp and scaled carp**Figure 2.** Monthly variation in absolute fecundity of mirror carp and scaled carp

For examination of the ovarian cycle, the observed oocytes of female mirror carp and scaled carp were classified into 5 developmental stages, and the characteristic features of each stage are given below. This categorization was based on previously published criteria: Oocyte size, appearance of nucleus in the cell and nucleolus number, type of cytoplasmic objects and their location in the cytoplasm (Wallace and Selman, 1981; West, 1990).

#### a. Chromatin nucleolus stage (Figure 3a)

This stage is characterized by the youngest and smallest oocytes. The large nucleus is surrounded by the cytoplasm and the oocytes appear basophilic after staining. Oocyte diameter is 20-60  $\mu\text{m}$ .

#### b. Peri-nucleolus stage (Figure 3b)

In this stage oocyte cytoplasm stains deeply with hematoxylin and appears darker than the nucleus. Many nucleoli varying in size are observed within the nucleus periphery. Oocyte diameter is 60-200  $\mu\text{m}$ .

#### c. Cortical alveolus stage (Figure 3c)

At the beginning of this stage the cortical alveoli begin to appear near the nucleus in the cyto-

plasm. As these spherical structures are stained with hematoxylin-eosin they seem to be empty. The cytoplasm becomes paler and homogenous. Oocytes continue to grow while cortical alveoli increase in size and number. Chorion (zona pellucida) first appears during this stage of oocyte development. Oocyte diameter is 200-600  $\mu\text{m}$ .

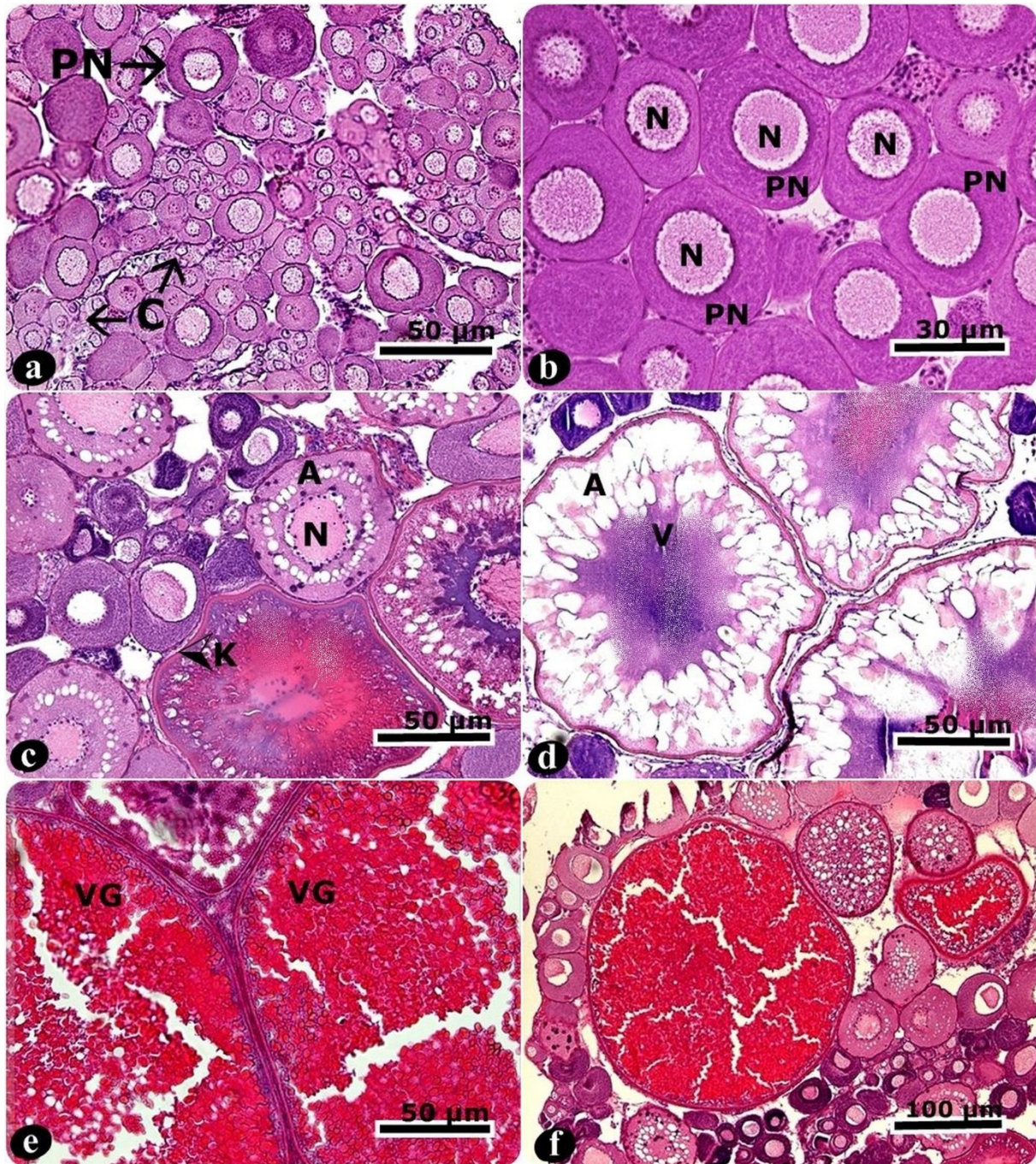
#### d. Vitellogenic stage (Figure 3d)

This is the longest stage of oogenesis and begins with the appearance of yolk globules around the nucleus. Cortical alveoli are displaced to the peripheral cytoplasm due to the increase in size and number of yolk globules. Oocytes almost reach maximum size during this stage. Chorion becomes rather distinct and oocyte diameter is 600-1000  $\mu\text{m}$ .

#### e. Mature oocyte stage (Figure 3e)

This is the final stage of oogenesis. The nucleus moves towards the animal pole where the micropyle is situated. The nucleus membrane breaks up and nucleoli are scattered in the cytoplasm. The yolk globules completely fuse together and cover the entire the cytoplasm. Oocyte diameter is 1000-1400  $\mu\text{m}$ .





**Figure 3.** Histological observations of the oocytes of *Cyprinus carpio*: (a) chromatin stage (C) (arrow; hematoxylin-eosin), (b) perinucleolus stage (PN) (arrow; hematoxylin-eosin), (c) cortical alveolus stage (A) (K-chorion; hematoxylin-eosin), (d) vitellogenic stage (V) (hematoxylin-eosin), (e) mature oocyte stage (Vg) (hematoxylin-eosin), (f) different oocyte developmental phases (hematoxylin-eosin).

The reproductive characteristics of fish vary according to species, and the physical, chemical, biological, and hydrographic properties of the water systems in which they live (Dubost et al., 1997; Karataş, 2000; Balık et al., 2006). Establishment of a self-sustained population in a new environment depends on the reproductive success

of introduced fish species (Minos et al., 2010). Definition of the stages of gonadal development used to evaluate such reproductive characteristics as breeding period and fecundity facilitates the collection of data on the reproductive success of a fish species.



In the present study, breeding season, GSI and fecundity were evaluated in order to determine the reproductive success of mirror carp and scaled carp populations in a reservoir environment located in a region with a harsh continental climate. It was previously reported that female mirror and scaled carp in Gelingüllü Reservoir begin to reach sexual maturity at age 3 years (Kirankaya and Ekmekçi, 2013); sexually mature (age  $\geq 3$  years) individuals were examined in the present study.

According to histological analysis and monthly changes in GSI, the mirror carp breeding period was April-August, versus April-July in scaled carp. Mean GSI in female mirror carp was 10.00 in March, whereas the maximum was 13.38 in April, after which time it gradually decreased (Figure 1). This changes in mean GSI indicated that spawning had begun. Similarly, GSI in female scaled carp was 11.93 in March and reached the maximum of 12.92 in April; the minimum mean GSI was 0.42 in August. According to these data, spawning in female mirror carp began during May when the water temperature was 18°C and continued during June and July, whereas scaled carp spawned between April and July. The wide range of GSI in both the mirror carp and scaled carp populations in the present study between April and June indicates that the samples included females with asynchronous ovaries that had both spawned and not spawned. Gupta (1975) found that carp specimens have laid all their eggs fractionally under controlled warm water aquaria conditions.

Histological analysis of ovaries in mirror carp and scaled carp yielded findings that mirrored the monthly changes observed in GSI. In both fish populations mature oocytes were first observed from the beginning of April until July. When ovulation was complete, post-ovulatory follicles (consisting of granulosa and theca cells) and atretic follicles were noted in the ovaries. Vazirzadeh et al. (2014) showed that wild carp populations from the south-eastern Caspian Sea were asynchronous multiple spawner. Sivakumaran et al. (2003) also reported that wild carp was both single and multiple spawners in South Victorian water of Australia. Smith and Walker (2004) also stated that spawning was asynchronous in common carp population from River Murray and each female may have spawned up to three discrete batches of eggs.

Ovarium structure in animals with cyclical reproduction characteristics varies according to the different phases of the cycle; there are 3 types of ovary—synchronous, group synchronous, and asynchronous (Wallace and Selman, 1981; Nagahama, 1983). According to histological analysis of ovarium tissues taken from mirror carp and scaled carp during the breeding period, it was determined that mirror carp and scaled carp have asynchronous ovaries and that different oocyte developmental phases are seen together (Figure 3f). It is known that fish species with asynchronous ovaries have a prolonged breeding season (Dubost et al., 1997; Smith and Walker, 2004). Generally, ovaries in multiple-spawners contain both post-ovulatory follicles and vitellogenic oocytes simultaneously; in this type of ovary, post-ovulatory follicles gradually disappear, but vitellogenic oocytes continue developing (Iqbal et al., 2007). In the present study, vitellogenic oocytes and mature oocytes were observed with post-ovulatory follicles simultaneously, indicating that carp is a multiple spawner, spawning more than once in a single spawning season. Yoneda et al., 1998 reported that there were post-ovulatory follicles and vitellogenic with matured oocytes in the ovaries of *Lophiomus setigerus* between May and November, which is evidence of multiple spawning.

Histological analysis in the current study showed that female mirror carp and scaled carp had mature eggs that contributed to sustaining the population. It was previously reported that there were 0+ age mirror carp fry in Gelingüllü Reservoir, whereas there were no scaled carp fry during the same period, and that there might be problems for the scaled carp population in terms of the spawning area and larval development in the reservoir (Kirankaya and Ekmekçi, 2013). Carp is known as a phytophilic fish species (Nikolsky, 1963) that depends on submerged macrophytes in the littoral zone for egg laying. Thus, there is a strong relationship between the structure of the littoral zone and reproductive success of phytophilic fish. Reservoirs are unstable land-water ecotones exposed to irregular changes in water level, and macrophyte colonization in such water is weak due to a narrow littoral zone and a high degree of steepness (Duncan and Kubecka, 1995). A narrow littoral zone and irregular water level in the littoral zone negatively affect carp spawning, egg development, and larval growth, as they lay their eggs on littoral macrophytes (Fernando and Holcik, 1991; Duncan and Ku-

becka; 1995). During the study period, it was determined that there was a tendency to decrease in water level in Gelingüllü Reservoir (Kirankaya and Ekmekçi, 2013). In this case, the narrow littoral zone, which has rare submerged macrophyte colony, might be more declined and therefore breeding area for carp might be limited. It is also possible that different populations with phyto-phylic features compete for use of this limited reproduction area. In an earlier study 0+ age mirror carp were observed with rate of 1.5%, but no 0+ age scaled carp were noted (Kirankaya and Ekmekçi, 2013), which suggests that mirror carp may have better adaptation for reproduction to the limited environments than scaled carp, and that scaled carp has lower reproduction performance in this environment. On the other hand,  $F_t$  values indicate that scaled carp had lower productivity than mirror carp.

## Conclusion

In conclusion, data of the current study shows that there were no completely atrophied gonads and that ovaries contained both vitellogenic and mature eggs during the breeding season. These findings suggest that there were no developmental problems that prevented reproduction of mirror carp and scaled carp, but as reservoirs have typical limnological features, the area in which these fish can lay eggs is limited; therefore, it might be that this is a factor that determines the reproductive success of carp in this environment.

## Acknowledgements

The authors are grateful for valuable support of Prof. Dr. F. Güler Ekmekçi during sampling and in the preparation of manuscript.

## References

- Bagenal, T.B. & Braum, E. (1971). Eggs and Early Life History. In: *Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters* (ed. WE Ricker), p.166-198. Oxford, UK: Blacwell Scientific Publications.
- Balık, İ. & Çubuk, H. (2001). Some reproduction characteristics of pikeperch (*Stizostedion lucioperca* (L., 1758)) and carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) populations in Karacaören I Dam Lake. *S.D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 5(2), 15-24.
- Balık, İ., Çubuk, H., Özkök, H. & Uysal, R. (2006): Some characteristics and size of carp (*Cyprinus carpio* L., 1758) population in the Lake Karamık (Afyonkarahisar/Turkey). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 6, 117-122.
- Crivelli, A.J. (1981). The biology of the common carp, *Cyprinus carpio* L. in the Camargue, southern France. *Journal of Fish Biology*, 18, 271-290.
- Culling, C.F.A., Allison, R.T. & Barr, W.T. (1985). *Cellular Pathology Technique*. Butterworth & Co. (Publ.) Ltd., London.
- Dubost, N., Mason, G. & Moreteau, J.C. (1997). Gonad development and filleting yield of common carp *Cyprinus carpio* L. reared in ponds in Eastern France. *Journal of Applied Ichthyology*, 13, 15-20.
- Duncan, A. & Kubecka, J. (1995). Land / water ecotone effects in reservoirs on the fish fauna. *Hydrobiologia*, 303, 11-30.
- Fernandez-Delgado, C. (1990). Life history patterns of the common carp *Cyprinus carpio*, in the estuary of the Guadalquivir river in south-west Spain. *Hydrobiologia*, 206, 19-28.
- Fernando, C.H. & Holcik, J. (1991). Fish in Reservoirs. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 76(2), 149-167.
- Gupta, S. (1975). The development of carp gonads in warm water aquaria. *Journal of Fish Biology*, 7, 775-782.
- Hulata, G., Moav, R. & Wohlfarth, G. (1974). The relationship of gonads and egg size to weight and age in European and Chinese races of the common carp *Cyprinus carpio* L. *Journal of Fish Biology*, 6, 745-758.
- Iqbal, K. M., Ohtomi, J. & Suziki, H. (2007). Reproductive biology of the Japanese silver-biddy, *Gerres equulus*, in western Kyushu, Japan. *Fisheries Research*, 83,145–150.
- Jankovic, D. (1971). Reproduction of carp (*Cyprinus carpio carpio* L.) in Lake Skadar. *Arhiv Bioloskih Nauka, Beograd*, 23, 73-92.
- Karakoç, R. & Sarıhan, E. (1987). Seyhan Baraj Gölü sudak (*Stizostedion lucioperca* (L.) 1758) ve aynalı sazan (*Cyprinus carpio* (L.) 1758) populasyonlarının gelişme performansları ve av kompozisyonu üzerine bir araştırma. *Ç.Ü. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 1(3), 69-80.

- Karataş, M. (2000). Kazova (Tokat) Kaz Gölü sazan (*Cyprinus carpio* L., 1758) popülasyonunun üreme özelliklerinin incelenmesi. *Turkish. Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24, 261-265.
- Kirankaya Ş.G. & Ekmekçi, F.G. (2013). Comparison of growth and reproduction of mirror carp and scaled carp introduced into Gelingüllü Reservoir, Yozgat, Turkey. *Turkish. Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37, 636-640.
- Kottelat, M. & Freyhof, J. (2007). Handbook of European freshwater fishes. Kottelat, Cornol, Switzerland and Freyhof, Berlin, Germany.
- Minos, G., Kokokiris, L. & Economidis, P.S. (2010). Sexual maturity of the alien redlip mullet, *Liza haematocheilus* (Temminck & Schlegel, 1845) in north Aegean Sea (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 26(2), 96-101.
- Nagahama, Y. (1983). The functional morphology of teleost gonads. In: *Fish Physiology Vol. IX A* (Eds. VS Hoar, DJ Randall & EM Donaldson), p. 223-275. New York: Academic Press, Inc.
- Nikolsky, G.V. (1963). The ecology of fishes (Translated by L. Birkett). Academic Press, London.
- Roberts, R.J. (2001). Fish Pathology, 3<sup>rd</sup> ed. Saunders, London.
- Sivakumaran, K.P., Brown, P., Stoessel, D. & Giles, D. (2003). Maturation and reproductive biology of female wild carp, *Cyprinus carpio*, in Victoria, Australia. *Environmental Biology of Fishes*, 68, 321-332.
- Smith, B.B. & Walker, K.F. (2004). Spawning dynamics of common carp in the River Murray, South Australia, shown by macroscopic and histological staging of gonads. *Journal of Fish Biology*, 64, 336-354.
- Vazirzadeh, A., Amiri, B.M. & Fostier, A. (2014). Ovarian development and related changes in steroid hormones in female wild common carp (*Cyprinus carpio carpio*), from the south-eastern Caspian Sea. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, DOI: 10.1111/jpn.12171.
- Vilizzi, L. & Walker, K.F. (1999): Age and growth of the common carp, *Cyprinus carpio*, in the River Murray, Australia: validation, consistency of age interpretation, and growth models. *Environmental Biology of Fishes*, 54, 77-106.
- Vilizzi, L., Ekmekçi, F.G., Tarkan, A.S. & Jackson, Z.J. (2015). Growth of common carp *Cyprinus carpio* in Anatolia (Turkey), with a comparison to native and invasive areas worldwide. *Ecology of Freshwater Fish*, 24, 165-180.
- Welcomme, R.L. (2001). Inland Fisheries: Ecology and Management. Blackwell Sciences Ltd., London.
- West G. (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 41,199-222.
- Wallace, R.A. & Selman, K. (1981). Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *American Zoologist*, 21, 325-343.
- Yoneda, M., Tokimura, M., Fujita, H., Takeshita, N., Takeshita, K., Matsuyama, M. & Matsuura, S. (1998). Ovarian structure and batch fecundity in *Lophiomus setigerus*. *Journal of Fish Biology*, 52, 94-106.

## A REVIEW OF SMART FISH FARMING SYSTEMS

**Faizan Hasan MUSTAFA<sup>1</sup>, Awangku Hassan Bahar Pengiran BAGUL<sup>2</sup>,  
Shigeharu SENOO<sup>1</sup>, Rossita SHAPAWI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Borneo Marine Research Institute, Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia

<sup>2</sup>Faculty of Business, Economics and Accountancy, Universiti Malaysia Sabah, Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia

**Received:** 02.09.2015

**Accepted:** 14.01.2016

**Published online:** 03.08.2016

**Corresponding author:**

**Faizan Hasan MUSTAFA**, Borneo Marine Research Institute, Universiti Malaysia Sabah, 88400 Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia

**E-mail:** [faizan.hasan@gmail.com](mailto:faizan.hasan@gmail.com)

---

### Abstract:

This paper reviews smart fish farming systems that demonstrate how complex science and technology can be made easy for application in seafood production systems. In this context, the focus of this paper is on the use of artificial intelligence (AI) in fish culture. AI mimics some of the capabilities of human brain via its Artificial Neural Network (ANN) in performing certain tasks in a fish hatchery that are crucial for aquaculture systems. Water quality is of utmost importance for survival, growth and all other living activities of captive stocks of fish. The AI-based systems can be designed for controlling the main parameters of water quality such as salinity, dissolved oxygen, pH and temperature. This systems approach uses software application that runs on an application server connected to multi-parameter water quality meters such as those offered by YSI. The software captures these parameter values from YSI device and checks if they are within the optimum range. If not, then an alarm system is triggered for immediate remedial action that can be executed by personnel handling the hatchery management roles. This improves accuracy, saves cost and action time to ensure sustainability life-supporting system in the hatchery. Despite complexity in evolving this system, the application is simple enough to be operated by an organized fish farming community. Because this study introduces a rather new approach

to aquaculture management, presentation of a detailed background scenario was deemed necessary to put the pertinent issues in the right perspective.

**Keywords:** Smart, Fish farming, Innovation, Technology, Community benefits



## Introduction

A great deal of knowledge has been generated in aquaculture and this has contributed to industrialization of this sector. Industrialization is associated with introduction of technology since a large number of parameters have to be controlled in modern-day aquaculture systems. Some of these operations require sophisticated tools and specially designed facilities which have evolved through intensive research and a great deal of innovation. Advancements in technology generally have supported the modernization of aquaculture since many products of technology not developed specifically for application in farming systems have found applications in this area. Some technological inventions are tailor-made for aquaculture operations. For example, design of semi-submersible cages, automatic time-controlled feeders and water recirculating and remediation systems require specific technology applications based on sound scientific knowledge. The visible benefits from technology have provided a supporting basis for advancing the aquaculture systems to the next higher level which is the application of computer controls and artificial intelligence (AI) for a greater degree of automation, effective management and decision-making.

Researchers working with fish stocks have been using empirical statistical and mathematical models expressed in equation form for evaluating length-weight relationship, condition coefficient, food electivity index, food conversion ratio and specific growth rate among other parameters. These measurements are widely used to assess the condition of cultured fish and effect of certain factors to modulate the system to improve production efficiency. There are qualitative components that constitute biological or environmental complexities which are beyond the capabilities of statistical formulas or models to solve. In such situations, application of AI is helpful and requires developing means to automate or mimic the computational processes of the brain to exercise control on culture systems. Artificial Neural Networks (ANN) and fuzzy logic are the main fields of AI for simulating, to some extent, human intelligence in machines. Neural network models are designed to emulate the core principles of the central nervous system which includes the pathways through which the sensory nerves carry the sensation perceived by sensory receptors to the brain in the form of an electrical im-

pulse while motor nerves carry the brain's message to effector organs where it is translated into action. ANN is a very simplified model of this sort of neural processing. It is worth emphasizing that these systems are nowhere near the complexity of human nervous system. Probably, it is no exaggeration to state that the human brain as the one of the most complex matter in the universe. The brain functions require many interconnected processing elements called as 'neurons'. Data fed at one end of the network produces output at the other end. In between these ends are layers of neurons. ANN despite being inspired by neurons in the brain, do not actually simulate neuron mechanisms. They are in much smaller number and much simpler than their biological neuronic counterparts.

ANN is designed for dealing with data and signal processing within a designed system where knowledge is embodied in the form of parameters of a dynamical system. In a hatchery system where there is fish (a biological entity) and non-biological components (water quality parameters such as temperature, pH, and dissolved oxygen, salinity) and the waste produced by fish, the analytical gadgets can quantify the chemical changes that can be channeled to a central command system (programs in a computer) which responds by sending signals (motor pathways) to regulators (for example, aerators, water flow control devices) which in turn act according to information fed into the system in the form of algorithm. As aquaculture progresses in this 21<sup>st</sup> century, ANN will be built in smart models comprising highly complex and sophisticated algorithms that require enormous amount of computer processing using specially developed software programs.

Aquaculturists realize that by controlling the environmental conditions and system inputs (for example, dissolved oxygen, salinity, feeding rate and stocking density), physiological rates of cultured species and metabolic outputs (for example, ammonia, pH and growth) can be regulated. These are exactly the kinds of practical measurements that will allow commercial aquaculture facilities to optimize their efficiency by reducing labor and utility costs, and decreasing the environmental impacts. Anticipated benefits for aquaculture process control systems are: (1) increased process efficiency, (2) reduced energy and water losses, (3) reduced labor costs, (4) re-

duced stress and disease, (5) improved accounting, and (6) improved understanding of the process (Phillip, 2000). A small number of AI systems available today have limited applications and these are based on a proven methodology for implementing management systems that are both intuitive as well as inferential.

The purpose of applying process control technology to aquaculture in developed countries encompasses many socio-economic factors, including variable climate, high labor costs, increased competition for water supply and land resources and a regulatory bureaucracy. These factors are pushing aquaculture industry there toward the use of intensive, recirculating, water filtration systems and off-shore pens and cages (Fridley, 1993; McCoy, 1993; Lee, 1995; Hayden, 1997; Helsley, 1997).

High efficiency, automated control systems should: (1) simultaneously reduce the need for high quality make-up water and the volume of pollutant-laden effluent for land-based recirculation systems, and (2) reduce labor costs for on-site supervision and normal feed wastage associated with off-shore aquaculture (Lee, 1995).

Use of computer monitoring and automation in aquaculture is a new development. The applications are visible in algae and food production (Lee, 1993), feed management (Hoy, 1985), filtration systems (Whitson *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1995; Turk *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2000), vision systems (Whitsell and Lee, 1994; Whitsell *et al.*, 1997), environmental monitoring and control (Hansen, 1987; Ebeling, 1991, 1993; Munasinghe *et al.*, 1993; Rusch and Malone, 1993) and integrated systems management (Lee, 1991; Lee *et al.*, 1995, Lee *et al.*, 2000 and Turk *et al.*, 1997). A good example of AI based system in aquaculture is that of aquaculture solar thermal water heating system control. The system consists of solar collector unit to supply hot water during the day hours, biogas heater as auxiliary unit during the night and cloudy days, storage tank to keep water temperature at high degree and thermostatic valve to control hot water flow rate to the pond. The principle of operation of this system can be explained through the three layers of an AI based aquaculture system (Figure 1). The input layer requires input of data such as air temperature, pond temperature and error, the hidden layer performs various logical calculations from the input provided by the input layer and the out-

put layer provides water supply based on the time of the day and weather.

This movement toward intensification and automation parallels the development of other forms of agriculture which share many characteristics with intensive aquaculture systems, and all these are commodity markets.

Some computer programs can even mimic the actions of acknowledged process experts (Bechtold, 1993, 1994). They require defined rules ('if' and 'then' statements) or graphical knowledge (flow charts or logic trees) to be formulated by process experts. This necessitates the rather tedious task of recording a process expert knowledge into the form of rules and then validating the expert system against the expert decisions. Often, experienced process experts find this process antagonistic, especially when they contradict the outcomes of their earlier rules. The process requires a patient expert and an even more patient computer programmer to refine or change the rules. The most significant consequence of a knowledge-based expert system is that it provides a process expert the ability to quickly distribute intelligence throughout the aquaculture industry.

AI contributes to decision-support systems with a focus on interactive problem-solving and experiential learning in knowledge-based systems. Utilizing knowledge that captures the semantics and pragmatics of the real-world problem-solving settings will certainly help in the growth of aquaculture industry with reduced risks and more profit without cost inflation.

An AI tool called as 'Expert System' (ES) is being used in some aquaculture industries motivated towards technology-intensive culture. It is a kind of computer program which can help in finding solution to some aquaculture problems by simulating the experts. ES stores a vast knowledge and experience of experts and practitioners in a certain domain and assists the farmers in applying the right method to solve their problems related to captive stocks. This goes beyond the generic thinking to specific knowledge application in a systems approach.

Jiang *et al.* (2012) stressed the importance of case-based reasoning (CBR) to capture, store and reuse knowledge as a core component of a decision-support. CBR is a reasoning method that solves a new problem by examining how a similar problem was solved before. This method

comprises a problem statement, a solution and an outcome, and has four steps:

1. Retrieve- a new problem described as a query case.
2. Reuse –taking up this case and either reusing it directly or adapting it to a solution that fits the query case.
3. Revise –taking the solution for evaluation, generally by applying it and getting it examined by a domain expert, and
4. Retain –learning it from the revised problem-solving experience by updating it to a case base.

AI tools provide a basis for decision-support, with a focus on interactive problem-solving and experiential learning in a knowledge-based system, utilizing knowledge that captures the semantics and pragmatics of real-world problem-solving setting with application in aquaculture.

#### Why AI in modern aquaculture?

- a) Before KM tools and collaborative workspaces were available, people had to access centrally managed and controlled databases. New knowledge creation and knowledge sharing were based on the productivity of a few people in a central team which, by comparison, was a slow process. The AI systems can be designed in a way that stakeholders can participate in new knowledge creation from their experiences in a meaningful way and blend it with knowledge generated by scientific trials, and the whole process becomes faster and easier than before. This also obviates the need for centrally controlled databases. AI systems are adaptable based on information that might emerge as a result of experiments conducted using new approaches under changing conditions.
- b) Knowledge bases enable people in a research institute or industry to create, collaborate, develop, and access new knowledge, more often as participants, to rapidly generate feedback and even create and edit new knowledge, where appropriate.
- c) Knowledge bases give a full context to a knowledge topic by structuring 'what, why, who, where, when, how' sort of queries.

- d) It is good that some of the knowledge bases like wikis do not require involvement of the IT department, although their support should be acknowledged. This means that knowledge bases can be created rapidly by the users themselves which will be very helpful in the aquaculture sector, as most of the stakeholders might not be tech savvy and thus they can also make use of KM tools to contribute to the knowledge base and retrieve vital information using these tools.

#### Application of AI based software in water quality management system

##### Water quality management in aquaculture:

Water quality is a critical factor when culturing any aquatic organism. Optimal water quality varies by species and must be monitored to ensure growth and survival. The quality of the water in the production systems can significantly affect the organism's health and the costs associated with getting a product to the market. Water quality parameters that are commonly monitored in the aquaculture industry include temperature, dissolved oxygen, pH, alkalinity, hardness, ammonia, and nitrites. Water quality directly affects the growth of aquaculture stocks, leading to a decline in production and economic benefits. Some of the most important parameters to consider while monitoring the water quality are pH, dissolved oxygen, salinity and water temperature.

##### Need for automation in water quality management:

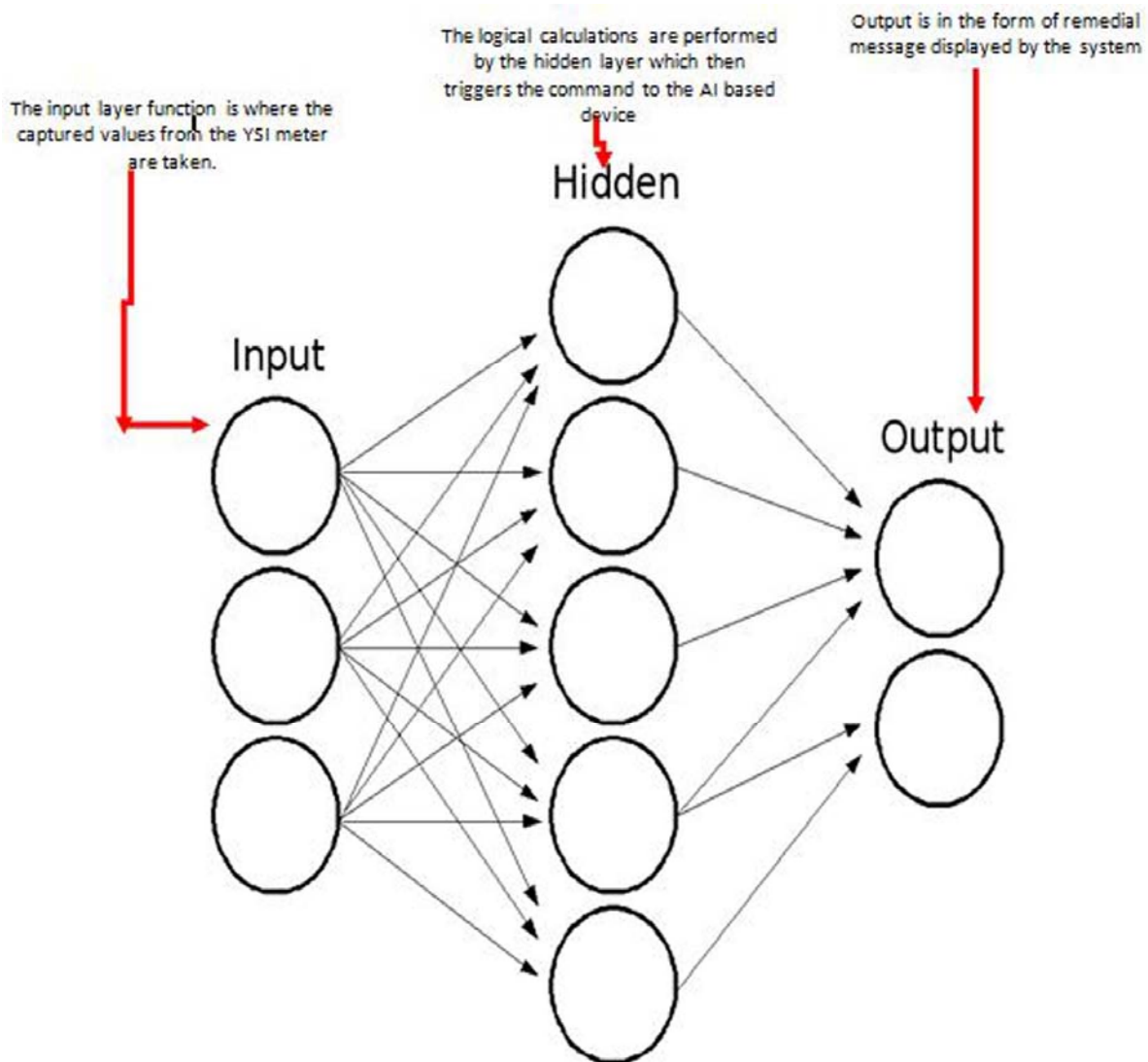
Water quality management is an essential part of aquaculture, and generally requires human intervention whenever there is a change in any one of the parameters that results in deterioration of quality of the rearing medium. In order to minimize human intervention which would result in cost saving and timely solution of the problem the automation via development of an AI system would enable such type of an operation.

The user interface consists of four input boxes which will capture the values for salinity level, pH level, dissolved oxygen and temperature of the water of the fish tank. The logic is programmed in the four buttons for checking the optimum levels of the four parameters. This acts as the 'brain' of the software program which does the logical calculations and determines if the levels are within the optimum range or out of it.

### Artificial neural networks in water quality management system

We know that artificial neural networks to some extent replicate the functions of the brain, thus the water quality management system can also use the same principles in determining the range for the four parameters of the water that are captured through the input layer via the YSI device. The software code captures the values via a hardware interface, and after the values have been captured the hidden (or logical) layer then performs the logical calculations using various “if” “else” conditions to check whether the values are within the optimum range or not. If the values are out of the range, then the application displays remedial solutions and also at the same time triggers an action via an AI based device which per-

forms the actual remedial solutions. As an example, a software prototype developed for Asian sea bass in our hatchery stores the range of critical water quality parameters: salinity (10 – 30 ppt), dissolved oxygen (4-9 ppm), pH (7.5-8.5) and temperature (26-32°C). The so-called brain of the system stores codes for the four parameters that can check if the captured values are within or outside the range. The program can be connected to an alarm system to notify the hatchery staff if the values are outside the range. Also, color coding can also be selected for each parameter and also for values which are above or below the critical range to inform the hatchery personnel the exact nature of the problem involving the water quality parameters.



**Figure 1.** Artificial neural network ([https://en.wikipedia.org/wiki/Artificial\\_neural\\_network](https://en.wikipedia.org/wiki/Artificial_neural_network))



We know that artificial neural networks to some extent replicate the functions of the brain, thus the water quality management system can also use the same principles in determining the range for the four parameters of the water that are captured through the input layer via the YSI device. The software code captures the values via a hardware interface, and after the values have been captured the hidden (or logical) layer then performs the logical calculations using various "if" "else" conditions to check whether the values are within the optimum range or not. If the values are out of the range, then the application displays remedial solutions and also at the same time triggers an action via an AI based device which performs the actual remedial solutions. As an example, a software prototype developed for Asian sea bass in our hatchery stores the range of critical water quality parameters: salinity (10 – 30 ppt), dissolved oxygen (4-9 ppm), pH (7.5-8.5) and temperature (26-32°C). The so-called brain of the system stores codes for the four parameters that can check if the captured values are within or outside the range. The program can be connected to an alarm system to notify the hatchery staff if the values are outside the range. Also, color coding can also be selected for each parameter and also for values which are above or below the critical range to inform the hatchery personnel the exact nature of the problem involving the water quality parameters.

## Conclusion

Smart aquaculture system described in this paper makes best use of available knowledge, resources and technology to increase production efficiency of aquaculture systems with reduced inputs and costs. Aquaculture industry can benefit by leveraging the broadband and digital technology in which many countries, including Malaysia, have made significant progress. It serves as a showcase of applying innovative approaches to increasingly important seafood production systems by way of aquaculture. The instrumentation technology has advanced in recent decades and sophisticated gadgets such as those offered by YSI can continuously monitor water quality with a payload of multiple sensors. It is practically feasible to align the sensors to wireless communication system to build an integrated sensor-network-wireless platform which can provide an accurate digital and real-time monitoring of aquaculture water quality (temperature, salinity, pH, dissolved oxygen, in a local or remote way

through hand phone. The remedial action which is handled by a neural arc connected to robotic facility requires separate hardware design and operating program. Besides monitoring and control of water quality, this sensor-digital combination will also help share information among farms by way of common devices and apps, increase the ability to analyze diverse information from more sources using cloud computing.

The anticipated next step is aligning the AI with robotics. AI is the most important and exciting area in robotics. AI system installed in a computer gathers data and facts through sensors or human input. Based on the program developed, the computer runs through the various actions and predicts which action will be most appropriate based on the collected information. Obviously, the computer will solve the problems it is programmed to solve. On its own, a computer does not have the analytical ability. The robot software is in the form of commands that tell a mechanical device (robot) what functions to perform and control its action. In a robot which can be used for aquaculture operations, the information flow programming is based on the concept that when the value of a variable (for example, dissolved oxygen) changes, the value of other variables (for example, dissolved gases in water, fish survival) should also change, and the robot through ANN should respond by mechanical control for finding solution to the problem. The system can be operated using mobile phones operating on android operating system, tablet computers or personal computers. With penetration of mobile phones to all sections of the society even in interior areas, this will be a convenient tool to manage aquatic farming as the main or supplementary food producing system.

Robot's domain or its capabilities are limited for specific applications. Aquaculture is a complex process where there are many variables, for examples, dissolved gases, pH, stocking density and food consumption among others. Certainly, software programs will be complicated and so will be the roles of a robot. There will be certain roles that despite the information it receives, the robot might not be able to solve the problem except to alert the hatchery operators to take the action. Take the case of fish stocking density in a hatchery tank. A single sensor in the form of a webcam can be connected to image detector in a computer that processes the image based on shape, color, and uses AI to inform which species and how



many of them have survived a treatment. At this stage of knowledge, removal of dead fish specimens and addition of new specimens can be handled by human beings working in the hatchery.

AI and robotics will increasingly find application in aquaculture in the current century as we go away from the coastal aquaculture to the deep sea where sea conditions are rough and extended human presence is neither economical nor practical for operations such as feeding the fish or regular daily monitoring.

Controlling the problem of biofouling is yet another important operation well suited for fish farming. It is quite well known that biofouling reduces water exchange in a sea cage, leading to shortage of oxygen-rich water entering the facility. This reduces fish growth, increases incidence of diseases and causes mortality. The cage also becomes heavier and its lifespan reduces. It requires a great deal of human labor to keep the cage free from biofouling. The net cleaning operations can be performed by robots.

## References

- Bechtold, W.R. (1993). A practical guide to expert systems: Part A. *Instrumentation and Control Systems*, 66, 41-43.
- Bechtold, W.R. (1994). A practical guide to expert systems: Part B. *Instrumentation and Control Systems*, 67, 75-78.
- [https://en.wikipedia.org/wiki/Artificial\\_neural\\_network](https://en.wikipedia.org/wiki/Artificial_neural_network)
- Fridley, R.B. (1993). Constraints to marine aquaculture: what role can engineering and technology play? In: J.K. Wang (ed.), *Techniques for Modern Aquaculture* (pp. 1-7). American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.
- Hansen, E. (1987). Computer-aided control and monitoring of aquaculture plants. In: L.G. Balchen (ed.), *Automation and Data Processing in Aquaculture* (pp. 187-192). Pergamon Press, Oxford.
- Hayden, A. (1997). Current and potential regulation of open ocean aquaculture. In: C.E. Helsley (ed.), *Open Ocean Aquaculture 1997: Chartering the Future of Ocean Farming* (pp. 3-14), *Proceedings of the International Conference University of Hawaii Sea Grant College Program*, Honolulu, HI.
- Helsley, C. (1997). Open ocean aquaculture conference summary, commentary and thoughts for the future. In: Helsley, C.E. (ed.), *Open Ocean Aquaculture 1997, Chartering the Future of Ocean Farming*, Proceedings of the International Conference (University of Hawaii Sea Grant College Program, Honolulu, HI).
- Hoy, L.B. (1985). A microcomputer-based system for feed control, temperature control and temperature recording in an experimental fish hatchery. *Computers and Electronics in Agriculture* 1, 105-110.
- Jiang, H., Ding, W., Ali, M. & Wu, X. (2012). IEA/AEE, pages 104-113. Springer-Verlag, Berlin.
- Lee, P.G. (1995). A review of automated control systems for aquaculture and design criteria for their implementation. *Aquaculture Engineering* 14, 205-227.
- Lee, P.G. (2000). Process control and artificial intelligence software for aquaculture. *Aquacultural Engineering* 23, 13-36.
- McCoy, H.D. (1993). Open ocean fish farming. *Aquaculture Management* 19, 66-74.
- Munasinghe, L., Gempeasaw, C.M., Bacon, J.R., Lussier, W.W. & Konwar, L. (1993). AMACS: a user-unfriendly windows-based aquaculture monitoring and controlling software. In: Wang, L.K. (ed.), *Techniques for Modern Aquaculture*, (pp. 71-80), American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.
- Phillip, G.L. (2000). Process control and artificial intelligence software for aquaculture. *Aquacultural Engineering* 23, 13-36.
- Rusch, K.A. & Malone, R.F. (1993). A microcomputer control and monitoring strategy applied to aquaculture. In: L.K. Wang, L.K. (ed.), *Techniques for Modern Aquaculture* (pp. 53 – 60), (American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI).
- Turk, P.E., Lawrence, A.L. & Lee, P.G. (1997). Design and operation of an environmentally isolated marine shrimp broodstock culture system using closed, recirculating water filtration. In: *Advances in Aquacultural Engineering* (pp. 209-218), Northeast Regional Engineering Service, Cornell, NY.

Journal abbreviation: **J Aquacult Eng Fish Res**

- Whitsell, A., Whitson, L.L. & Lee, P.G. (1997). A machine vision system for aquaculture: real-time identification of individual animals and estimation of animal activity. In: *Advances in Aquacultural Engineering* (pp. 112-128), Northeast Regional Agricultural Engineering Service, Cornell, NY.
- Whitson, L., Turk, P. & Lee, P.G. (1993). Biological denitrification in closed recirculating marine culture system. In: *Techniques for Modern Aquaculture* (Wang, J.K., ed.), (pp. 458-466), American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.
- Whitson, L., Turk, P. & Lee, P.G. (1993). Biological denitrification in closed recirculating marine culture system. In: Wang, J.K. (ed.), *Techniques for Modern Aquaculture* American Society of Agricultural Engineers, St. Joseph, MI.

## NORTHWARDS RANGE EXPANSION OF *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758) IN THE TURKISH AEGEAN SEA

Sercan YAPICI, Halit FİLİZ, Gökçen BİLGE

Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Fisheries, Kötekli, Muğla, Turkey

Received: 29.12.2015

Accepted: 02.03.2016

Published online: 09.08.2016

Corresponding author:

Sercan YAPICI, Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Fisheries, 48000, Kötekli, Muğla, Turkey

E-mail: [sercanvapici@mu.edu.tr](mailto:sercanvapici@mu.edu.tr)

---

### Abstract:

The northward establishment of *Sparisoma cretense* in the Turkish waters of Aegean Sea is documented. Three samples of this thermophilic species were collected on 19 March 2014 along the eastern coasts, at the limits between the Central and Northern part of the basin. Meridionalization and tropicalization in the Aegean Sea are briefly discussed.

**Keywords:** *Sparisoma cretense*, Meridionalization, Tropicalization, Global warming, Thermophilic species, Aegean Sea

---

## Introduction

Recent marine communities are being altered and remodelled depending on natural changes which occurred over geological times. However, the man-made effects associated with advancement of civilization are destructive rather than formative in marine ecosystems. Main and collateral effects of anthropogenic factors cause the reshuffling of geographical distribution of plant and animal species (Galil, 2007). Considering the Mediterranean Sea, nowadays, the increasing of sea water temperature, caused by the global warming, produces and/or enhances the shift and poleward migration of many taxa that are now extending their natural biogeographical range. Thus some species, typically known as thermophilic are currently colonizing the northern sectors. Following literature Azzurro (2008, 2010, and references within), thermophilic fishes of the Mediterranean can be categorized into two major groups:

1) Native or indigenous fishes, with tropical or subtropical affinity and origin, entered in the Mediterranean during previous interglacial phases of the Quaternary. These species occur typically in the southern Mediterranean, where water temperature is warmer than average. The northward spread of the native warm water biota has been termed as “meridionalization”.

2) Exotic (or non-indigenous fishes), have recently entered the Mediterranean, mainly from the Red Sea or from the Atlantic Ocean. These species have taken advantage of suitable pathways for dispersal in the western and eastern sectors of the Mediterranean, respectively. The increase of water temperature allows the successful introduction and spreading of tropical exotic species in the Mediterranean Sea, a phenomenon that has been called ‘tropicalization’. Another definition that has been used is “demediterraneization” (Quignard and Tomasini, 2000) and represented the process of biotic homogenization of the Mediterranean Sea.

Bianchi (2007) suggested that the phenomenon of the tropicalization of the Mediterranean results from the combination of four factors: Atlantic in-

flux, lessepsian migration, introductions by humans, and present-day sea warming. The same author tends to include in this phenomenon also, the northwards range extension of native thermophilic species, observed in the recent decades. On this basis, it can be suggested therefore that the native thermophilic species appearing northern than the known range could serve as sentinels by providing the first indication of changes in sea-water temperature (Azzurro, 2008).

Parrotfishes consist of 10 genera and 88 species, two in the Mediterranean, the native *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758) and the Lessepsian migrant *Scarus ghobban* Forsskal, 1775 (Nelson, 2006; Golani et al., 2006). The parrotfish *Sparisoma cretense* is thermophilic species, mainly distributed along the eastern and southern coasts of Mediterranean Sea to the west coast of Europe and Africa from Portugal to Senegal, in depth ranging from shallow waters to 50 m approximately (Bauchot, 1987; Petrakis and Papaconstantinou, 1990).

In this work, the presence of the Mediterranean parrotfish is documented for the first time in the northeastern coasts of the central Aegean Sea, ascertaining the tendency of its population to spread northwards in the basin.

## Materials and Methods

On March 19<sup>th</sup> 2014, a single adult male and two female’s specimens of *S. cretense* (Figure 1.) were collected by a trammel net (mesh size: 20 mm, 1.5 m deep and 300 m long) at a depth of 22 m (on rocky bottom) in Sığacık Bay (N Aegean Sea / 38° 13’ N - 26° 40’ E) (Figure 2). The specimens were fixed in 70% ethanol, deposited in the Faculty of Fisheries Museum Collection, Muğla Sıtkı Koçman University and cataloged under the number MUSUM/PIS/2014-1. Metric characters of the specimens were measured with a digital calliper (to the nearest 0.01 mm), whereas the meristic characters were counted under a stereo zoom microscope having × 20 magnification.





Figure 1. Map of central Aegean Sea indicating sampling area (with asterisk).



Figure 2. Photograph of three specimens, *Sparisoma cretense*, caught in the Aegean Sea

## Results and Discussion

The specimens were identified based on criteria presented in Bauchot (1987) and sexual discrimination was performed according to their colour morph (de Girolamo et al., 1999) and confirmed by visual examination of the gonads. Selected main morphometric features of specimens are presented in Table 1.

Warming of the sea is admitted as a major factor that influences the remodelling of the Mediterranean marine biodiversity (Bianchi, 1997; Bianchi and Morri, 2004; Lejeune et al., 2010). Although the occurrence of the native parrotfish *S. cretense* is chiefly documented from the warm-water sectors of the Mediterranean, in the last two decades an advancement of its distribution towards northern and colder sectors of the basin has been reported (Adriatic: Guidetti and Boero, 2001, 2002; Dulčić and Pallaro, 2001; Bello et al., 2004; Azzurro et al., 2011; Kruschel et al., 2012, Ionian Sea: Perdikaris et al., 2012). It could be seen therefore as an indicator species of global warming by scientists. A similar trend is observed in the Aegean Sea. In the Hellenic Aegean waters, the occurrence of the parrotfish, well known from the south, southeastern and central part of the basin, has been recently reported also from the North (Lesvos, Limnos Islands) (Papaconstantinou, 2014). Along the Aegean Turkish coasts,

the species is present in the Southeastern coasts (Akın et al., 2005; Öğretmen et al., 2005; Oz et al., 2007), and also up to the North (Eryilmaz, 2003). Studies based on data including last three decades showed that seawater temperature increased approximately 1–2°C (Pancucci-Papadopoulou et al., 2012; Bianchi et al., 2014) and warming trend is 0.06°C/year in the south Aegean Sea (Lasram et al., 2010; Skliris et al., 2011, Shaltout and Omstedt, 2014). As it is well known, the SST gradient of whole Aegean sub-basin is significantly controlled by water exchange between cold/fresh Black Sea water entering through the Dardanelles Strait and warm/saline Levantine basin water entering through the Cretan Arc Straits (Zervakis et al., 2000; Poulain et al., 2012). Besides, the Aegean SST varies zonary and seasonally, even at the same latitude, due to the Etesian winds and water currents (Kotroni et al., 2001). However, recent studies have demonstrated that sea warming trend of the Black Sea has been increasing significantly. Moreover, future scenarios showed that ever-increasing warming trend in Black Sea leads to decrease in heat changes between Black Sea and Aegean Sea (Kotroni et al., 2001; Shaltout and Omstedt, 2014). Therefore, it has been triggered tropicalization and meridionalization phenomenon underlie changes in the Aegean marine fauna.

**Table 1.** The main morphometric and meristic characters of *Sparisoma cretense* in the Aegean Sea

Specimens	♀ <sub>1</sub>	♀ <sub>2</sub>	♂
<b>Morphometric characters (mm)</b>			
Total length	222.0	235.0	255.0
Standart length	201.0	210.0	226.0
Body weight (g)	190.34	221.79	267.96
Head length	55.33	58.04	69.60
Eye diameter	10.96	11.02	13.04
Interorbital distance	16.44	16.68	17.07
Preorbital distance	18.49	22.58	29.52
Predorsal length	55.26	58.63	71.43
Preanal length	113.49	115.24	136.48
Body depth	60.15	61.65	73.89
<b>Meristic characters</b>			
Dorsal fin rays	VIII - 10	VIII - 10	XI - 10
Anal fin rays	III - 9	III - 9	III - 9
Pectoral fin rays	12	12	12
Pelvic fin rays	I - 5	I - 5	I - 5
Lateral line	22	21	21

Consequently, on one hand the Aegean is testing the tropicalization phenomenon, being evidently subjected to alien invasions mainly in its south sub-basin, and, on the other hand, it is facing the meridionalization phenomenon, showed by the poleward migration of thermophilic native species, including the parrotfish. Nevertheless, the relationship between tropicalization, meridionalization, and biodiversity is not straightforward due to water warming, moving and/or removed geographical barriers, spatial overlap between alien and indigenous species (Coll et al., 2010).

## Conclusion

The presence of *S. cretense* at Sığacık Bay fills first of all a gap of knowledge on its occurrence in the area between the south and north eastern coasts of the Turkish waters of the Aegean Sea, ascertaining the enlargement of its distribution towards the north. Thus, monitoring the occurrence of thermophilic indicator species, such as the parrotfish, will help to predict possible changes on the Mediterranean marine ecosystems.

## Acknowledgements

We would like to thank anonymous reviewers for their helpful and constructive comments and English corrections. We also thank to local fisherman for providing biological samples.

## References

- Akın, S., Buhan, E., Winemiller, K.O. & Yılmaz, H. (2005). Fish assemblage structure of Koycegiz Lagoon-Estuary, Turkey: Spatial and temporal distribution patterns in relation to environmental variation, *Estuarine Coastal Shelf Science*, 64, 671-684. doi:10.1016/j.ecss.2005.03.019
- Azzurro, E. (2008). The advance of thermophilic fishes in the Mediterranean Sea: overview and methodological questions. In F. Briand (Eds.), *Climate warming and related changes in Mediterranean marine biota* (pp. 39–46). No:35. CIESM Workshop Monographs, Monaco.
- Azzurro, E. (2010). Unusual occurrences of fish in the Mediterranean Sea: an insight on early detection. In D. Golani & B. Appelbaum-Golani (Eds.), *Fish Invasions of the Mediterranean Sea: Change and Renewal* (pp. 99-126). Sofia-Moscow: Pensoft Publishers.
- Azzurro, E., Moschella, P. & Maynou, F. (2011). Tracking signals of change in Mediterranean fish diversity based on local ecological knowledge. *PLoS ONE*, 6(9), e24885. doi: 10.1371/journal.pone.0024885
- Bauchot, M.L. (1987). Poissons osseux. In W. Fischer, M.-L. Bauchot & M. Schneider (Eds.), *Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. (Révision 1)*. (pp. 891-1422). Méditerranée et Mer Noire. Zone de pêche 37. Vol. 2: Vertébrés. Rome: FAO.
- Bello, G., Casavola, N. & Rizzi, E. (2004). Aliens and visitors in the southern Adriatic Sea: effects of tropicalization. *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, 37, 491.
- Bianchi, C.N. (1997). Climate change and biological response in the marine benthos. *Proceedings of the Italian Association for Oceanology and Limnology*, 12(1), 3-20.
- Bianchi, C.N. (2007). Biodiversity issues for the forthcoming tropical Mediterranean Sea. *Hydrobiologia*, 580, 7-21. doi: 10.1007/s10750-006-0469-5
- Bianchi, C.N., & Morri, C. (2004). Climate change and biological response in Mediterranean Sea ecosystems – a need for broad-scale and long-term research. *Ocean Challenge*, 13(2), 32-36.
- Bianchi, C.N., Corsini-Foka, M., Morri, C., & Zenetos, A. (2014). Thirty years after: dramatic change in the coastal marine ecosystems of Kos Island (Greece), 1981-2013. *Mediterranean Marine Science*, doi: 10.12681/mms.678.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Lasram, F.B.R., Aguzzi, J., Ballesteros, E., Bianchi, C.N., Corbera, J., Dailianis, T., Danovaro, R., Estrada, M., Froglia, C., Galil, B.S., Gasol, J.M., Gertwagen, R., Gil, J., Guilhaumon, F., Kesner-Reyes, K., Kitsos, M-S., Koukouras, A., Lampadariou, N., Laxamana, E., Lopez-Fe de la Cuadra, C.M., Lotze, H.K., Martin, D., Mouillot, D., Oro, D., Raicevich, S., Rius-Barile, J., Saiz-Salinas, J.I., Vicente, C.S., Somot, S., Templado, J., Turon, X., Vafidis, D., Villanueva, R. & Voultsiadou, E. (2010). The Biodiversity of the Mediterranean Sea: Estimates,

- Patterns, and Threats. *PLoS ONE*, 5(8), e11842. doi: 10.1371/journal.pone.0011842
- de Girolamo, M., Scaggiante, M. & Rasotto, M.B. (1999). Social organization and sexual pattern in the Mediterranean parrotfish *Sparisoma cretense* (Teleostei: Scaridae). *Marine Biology*, 135 (2), 353-360.
- Dulčić, J. & Pallaoro, A. (2001). Some new data on *Xyrichtys novacula* (Linnaeus, 1758) and *Sparisoma cretense* (Linnaeus, 1758) from the Eastern Adriatic. *Annales, Series Historia Naturalis*, 11(1), 35-40.
- Eryilmaz, L. (2003). A study on the fishes of Bozcaada Island (North Aegean Sea). *Turkish Journal of Marine Science*, 9(2), 121-137.
- Galil, B.S. (2007). Loss or gain? Invasive aliens and biodiversity in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 55 (7-9), 314-322. doi: 10.1016/j.marpolbul.2006.11.008
- Golani, D., Ozturk, B. & Basusta, N. (2006) *Fishes of the Eastern Mediterranean*. Turkish Marine Research Foundation, Istanbul, Turkey.
- Guidetti, P. & Boero, F. (2001). The occurrence of the Mediterranean parrotfish *Sparisoma cretense* (L.) (Perciformes, Scaridae) in south-eastern Apulia (SE Italy). *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 81, 717-719.
- Guidetti, P. & Boero, F. (2002). Spatio-temporal variability in abundance of the parrotfish, *Sparisoma cretense*, in SE Apulia (SE Italy, Mediterranean Sea). *Italian Journal of Zoology*, 69, 229-232. doi: 10.1080/11250000209356464
- Kotroni, V., Lagouvardos K. & Lalas D. (2001). The effect of the island of Crete on the Etesian winds over the Aegean Sea, *Journal of the Royal Meteorological Society*, 127(576), 1917-1937. doi: 10.1002/qj.49712757604
- Kruschel, C., Zubak, I., Schultz, S.T. & Dahlke, S. (2012). New records of the parrot fish, *Sparisoma cretense*, and the cleaver wrasse, *Xyrichtys novacula*, by visual census in the Southern Adriatic, *Annales Series Historia Naturalis*, 22(1), 47-53.
- Lasram, F.B.R., Guilhaumon, F. & Mouillot, D. (2010). Global warming and exotic fishes in the Mediterranean Sea: introduction dynamic, range expansion and spatial congruence with endemic species. In D. Golani & B. Appelbaum-Golani (Eds). *Fish Invasions of the Mediterranean Sea: Change and Renewal* (pp. 35-56), Sofia-Moscow: Penssoft Publishers.
- Lejeusne, C., Chevaldonné, P., Pergent-Martini, C., Boudouresque, C. & Pérez, T. (2010). Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted Mediterranean Sea. *Trends in Ecology & Evolution* 25(4), 250-260. doi: 10.1016/j.tree.2009.10.1009.
- Nelson, J.S. (2006). *Fishes of the World*. John Wiley and Sons, Inc. ISBN, 978-0-471-25031-9
- Oz, M.I., Kus, E., & Yuksek, A. (2007). Notes on the Erythrean alien fishes of the Datca-Bozburun Peninsula - a specially protected area in the South Eastern Aegean Sea (Turkey). *Rapports de la Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Méditerranée*, 38, 563.
- Öğretmen, F., Yilmaz, F. & Torcu Koç, H., (2005). An investigation on fishes of Gökova Bay (Southern Aegean Sea). *Journal of Science & Technology of Balıkesir University*, 7(2), 19-36.
- Pancucci-Papadopoulou, M.A., Raitsos, D.E. & Corsini-Foka, M. (2012). Biological invasions and climatic warming: implications for south-eastern Aegean ecosystem functioning. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 92(4), 777-789. doi: 10.1017/S0025315411000981
- Papaconstantinou, C. (2014). Fauna Graeciae. An updated checklist of the fishes in the Hellenic Seas, Monographs on Marine Sciences, 7, Athens 2014, HCMR, 340 pp. ISBN, 978-960-9798-04-4
- Perdikaris, C., Konstantinidis, E. & Paschos, I. (2012). *Sparisoma cretense* (L. 1758) from the NW Ionian coast of Greece. *Mediterranean Marine Science*, 13(1), 164.
- Petrakis, G. & Papaconstantinou, C. (1990) Biology of *Sparisoma cretense* in the Dodecanese (Greece). *Journal of Applied Ichthyology*, 6(1), 14-23. doi: 10.1111/j.1439-0426.1990.tb00497.x



- Poulain, P., Menna, M. & Mauri E. (2012). Surface geostrophic circulation of the Mediterranean Sea derived from drifter and satellite altimeter data, *Journal of Physical Oceanography*, 42(6), 973-990. doi: 10.1175/JPO-D-11-0159.1
- Quignard, J.P. & Tomasini, J.A. (2000). Mediterranean fish biodiversity. *Biologia Marina Mediterranea*, 7, 1-66.
- Shaltout, M., & Omstedt, A. (2014). Recent sea surface temperature trends and future scenarios for the Mediterranean Sea, *Oceanologia*, 56(3), 411-443. doi:10.5697/oc.56-3.411
- Skliris, N., Sofianos, S.S., Gkanasos, A., Axaopoulos, P., Mantziafou, A. & Vervatis, V. (2011). Long-term sea surface temperature variability in the Aegean Sea. *Advances in Oceanography and Limnology*, 2(2), 125-139. doi: 10.1080/19475721.2011.601325
- Zervakis, V., Georgopoulos D. & Drakopoulos P. (2000) The role of the North Aegean in triggering the recent Eastern Mediterranean climatic changes, *Journal of Geophysical Research*, 105(C11), 103-126. doi: 10.1029/2000JC900131

## ENDÜSTRİYEL BALIKÇI TEKNELERİNİN SOSYO-EKONOMİK GÖSTERGELERİ: SİNOP İLİ ÖRNEĞİ

Ahmet Şeref KORKMAZ, Tolga ÇOŞKUN

Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü Dışkapı-Ankara Türkiye

Received: 15.02.2016

Accepted: 04.04.2016

Published online: 29.09.2016

Corresponding author:

Ahmet Şeref KORKMAZ, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü 06110 Dışkapı-Ankara Türkiye

E-mail: [korkmaz@agri.ankara.edu.tr](mailto:korkmaz@agri.ankara.edu.tr)

### Öz

Bu çalışma, Sinop ilindeki 44 adet endüstriyel (orta ve büyük ölçekli) balıkçı teknelerinin 2008-2009 av mevsimindeki balıkçılık faaliyetlerine dayalı olarak sosyo-ekonomik göstergelerini saptamak amacıyla yürütülmüştür. Balıkçı tekneleri balıkçılık tipine göre gırgır (1 adet), trol (8 adet) ve trol-gırgır (35 adet) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Balıkçılıkla ilgili teknik, sosyal ve ekonomik veriler, balıkçı gemilerinin sahipleri veya işletenleri ile yüz yüze görüşme tekniği uygulanarak anketlerin doldurulmasıyla toplanmıştır. Toplanan veriler kullanılarak Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin sosyo-ekonomik göstergeleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin %29,55'inin negatif ekonomik performans gösterdiği saptanmıştır. Trol teknelerinin %75'i, trol-gırgır teknelerinin de %20'si negatif ekonomik performans sergilemişlerdir. Bunun dışında, gırgır ve trol tekneleri kâr marjı bakımından alternatif yatırım araçlarından daha düşük getiri sağlamışlardır.

**Anahtar Kelimeler:** Endüstriyel balıkçı tekneleri, Yerel sosyo-ekonomik göstergeler, Sinop

### Abstract:

#### Socioeconomic Indicators of Industrial Fishing Vessels: A Case Study of Sinop Province

This study was carried out to determine the socio-economic indicators in the 2008/2009 fishing season of the industrial (medium- and large-scale) fishing vessels 44 nos. in the province of Sinop. Fishing vessels were grouped as purse-seiner (1 nos.), trawler (8 nos.) and trawler-purse-seiner (35 nos.) according to fishery types. Technical, economic and social data related with fishing activity were collected by filling of questionnaires forms using face-to-face survey with vessel's owner or operator. From collected data, local socio-economic indicators of the industrial fishing vessels were determined. According to obtained results, 29.55 per cent of the industrial fishing vessels in Sinop Province were determined to show the negative economic performance. 75 per cent of trawler vessels and 20 per cent of trawler-purse-seiner vessels were shown the negative economic performance. Otherwise, purse-seiner and trawler vessels were provided low return more than alternative investment tools by profit rate.

**Keywords:** Industrial fishing vessels, Local socio-economic indicators, Sinop (Turkey)

## Giriş

Balıkçılık çok eskiden beri insanlık için temel gıda kaynağı olduğu gibi bu faaliyetle ilgilenenlere istihdam ve ekonomik faydalar sağlamıştır (Anonymous, 1999). Balıkçılık faaliyeti pek çok ülkenin ekonomik gelişmesine ve tüketici refahına katkı sağlamaya başladıktan sonra dünyanın pek çok bölgesindeki balıkçılık kaynakları aşırı avcılıkla önemli ölçüde küçülmüş, hatta tehlikeye atılmıştır. Aşırı avcılığa globalleşen balık pazarında fiyatların düşmesi kadar avlama teknolojilerindeki gelişmeler de neden olmuştur. Bunun üzerine birçok devlet ferdi ya da topluca tahrip olan balıkçılık kaynaklarını ve balıkçılığı iyileştirme çabaları göstermeye başlamışlardır (Franquesa ve ark., 2001).

Dünyadaki pek çok balıkçılık alanında balıkçılık yönetimi yetkilileri kaynakları korumak için çeşitli yönetsel tedbirleri uygularken, güçlüklerle karşılaşmışlardır. Balıkçılık yöneticileri, av miktarından ziyade av çabasının kontrolüne ilişkin kararlara yönelmişlerdir. Bu kararlar tekneyi ve balıkçıyı esas alacağından, başka bir argümanın daha devreye sokulması gerektiği fikrinde birleşmişlerdir. Balıkçılık kaynağı ya da sektörün sosyal ve ekonomik açıdan sürdürülebilir olabilmesi için bu argümanın zamana bağlı olarak balıkçılığı karşılaştırmaya imkân sağlaması gerektiğini düşünmüşlerdir. Bunun da, balıkçılık kaynaklarının ve balıkçılığın yönetiminde biyolojik göstergelerle birlikte sosyo-ekonomik göstergelerin kullanılmasıyla mümkün olabileceğine kanaat getirmişlerdir (Sabatella ve Franquesa, 2004).

Sosyo-ekonomik göstergeler, balıkçılık yönetiminde uygulanan yönetsel politikaların global, ulusal, bölgesel ve yerel düzeyde performansını tahmin etmeye yardımcı olurlar. Bu şekilde balıkçılık kaynaklarının ve faaliyetlerinin kolayca anlaşılmasını sağlayarak, zamana bağlı olarak balıkçılık hakkında daha net tahminler ve karşılaştırmalar yapılmasını sağlarlar (Anonymous, 1999). Sosyo-ekonomik göstergeler, her ülkedeki balıkçılık sektörünün sosyo-ekonomik durumunun bilinmesi ve değerlendirilmesi için temel bilgiyi oluşturduğundan, filolarda, bölgelerde, ülkelerde, üretim değişikliklerinde, fiyatlarda, giderlerde, ekonomik verimde, istihdamda, teknolojiye ve balıkçılık kaynaklarındaki değişikliklerin balıkçılık faaliyetlerine etkilerini analiz etmede kullanılabilir (Franquesa ve ark., 2001).

Politik veya analitik amaçlar için toplanan/işlenen verileri ya da veri kombinasyonlarını içeren balıkçılık göstergeleri balıkçılık sistemlerinin durumunun değerlendirilmesi ve iyileştirilmesi için sistemler üzerindeki politik değişiklikleri ölçen pratik ve ucuz araçlardır (Anonymous, 1999; Le Gallic, 2002; Sabatella ve Franquesa, 2004). Göstergeler, balıkçılık yönetiminde karar verme işleminde paydaşlar arasındaki iletişimi ve geçerli yönetsel bilgiyi sağladıkları gibi hedefler ve aksiyonlar arasında köprü görevi de görürler. Kısaca, balıkçılığın biyolojik, ekonomik ve sosyal açıdan tam bir resmini çıkarmaya yardımcı olurlar. Bundan dolayı, balıkçılık yönetiminde kullanılacak göstergelerin belirlenmesi, tahmini ve değerlendirilmesi hâlen tartışılmakta ve pek çok bilimsel ve teknik dokümana konu olmaktadır (Accadia ve Spagnolo, 2006).

Türkiye’de bugüne kadar balıkçılık yönetiminde karar verme işleminde çeşitli ülkelerde kullanılan biyolojik göstergeler kullanılmış, sosyo-ekonomik göstergeler ise hiç dikkate alınmamıştır. Çünkü Türkiye’de deniz balıkçılığının sosyo-ekonomik göstergelerini belirlemeye yönelik kıyı balıkçılığına ilişkin tek araştırma (Ünal ve Franquesa, 2010) vardır. Orta ve büyük ölçekli balıkçılığın sosyo-ekonomik göstergelerinin saptanmasına yönelik araştırmalar çok az sayıdadır.

Karadeniz Bölgesi’nde yer alan Sinop; Karadeniz’de av mevsiminin başladığına dair ilk işaretin alındığı yer olmasının yanı sıra Türkiye’de deniz balıkları avcılığının %5-7’sini oluşturması ve balık unu/yağı üretiminin yarısından fazlasını (%52’sini) gerçekleştiren işleme tesisleriyle önemli bir balıkçılık merkezidir (Anonim 2009a,b).

Sinop ilindeki işleme tesislerinin yegâne hammadde kaynağı endüstriyel balıkçı teknelerinden sağlanmasına rağmen, bu teknelerin sosyo-ekonomik göstergelerinin saptanmasına yönelik bir araştırma bulunmamaktadır. Bu araştırmada Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin sosyo-ekonomik göstergeleri belirlenerek, balıkçılık yönetimi yetkililerine yönetsel uygulamalar için veri seti temin edilmesi ve bundan sonra yapılacak çalışmalar için alt yapı oluşturması amaçlanmıştır.

## Materyal ve Metot

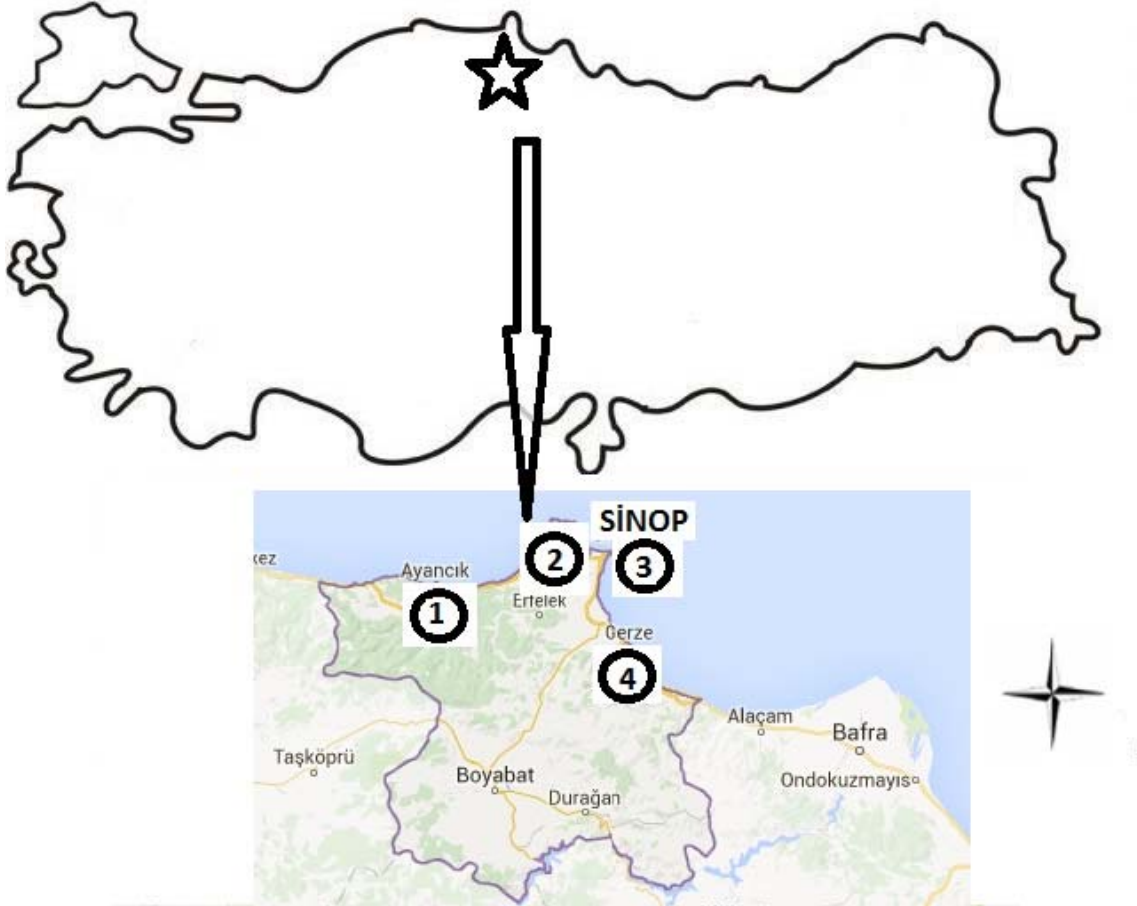
Araştırma, Sinop ilindeki dört balıkçı limanı ve barınakta (Merkez, Aklıman, Ayancık ve Gerze) yürütülmüştür (Şekil 1).

Sinop ilindeki 44 adet endüstriyel balıkçı teknesi kullandıkları temel avlama aracına göre gırgır (1 adet), trol (8 adet) ve trol-gırgır (35 adet) olmak üzere üç gruba ayrılmış (Ferraris, 2002) ve tam sayım yöntemi (Yamane 2001) uygulanmıştır.

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin 2008-2009 av mevsimindeki sosyo-ekonomik göstergelerini saptamak amacıyla filonun teknik özellikleri, balıkçıların sosyal durumu ve balıkçı teknelerinin gelir-gider verileri, Mayıs 2009'da tekne sahibi veya işleteni ile yüz yüze görüşme yapılarak, anketlerin doldurulması yoluyla toplanmıştır (Franquesa ve ark., 2001; Sabatella ve Franquesa, 2004).

Sinop ilindeki balıkçı teknelerinin balıkçılık giderleri değişken (mazot ve yağ, işçilik giderleri, buz, kasa, komisyon, vergi rüsum ve harçlar vb.)

ve sabit giderler (sigorta, amortisman, faiz) olarak iki başlıkta incelenmiştir. Akaryakıt ve yağ giderlerinin hesaplanmasında, Özel Tüketim Vergisi (ÖTV)'siz mazot fiyatı 1.60-1.65 TL/L, Özel Tüketim Vergi (ÖTV)'li mazot fiyatı 2.40-2.50 TL ve yağ fiyatı da 4 TL/L olarak alınmıştır. İşçilik giderleri; taşıma işçilerine ödenen ücretler, tayfa ücretleri ve kaptana ödenen ücretlerin toplamı olarak hesaplanmıştır. Tayfa ücretleri nakdi olarak ödenebildiği gibi tayfa payı (avlama giderleri düşüldükten sonra av payı) şeklinde de ödendiğinden tayfa payı hesaplanırken, tekne sahibi de daima bir tayfa olarak değerlendirilmiştir (De Stefano ve ark., 2006). Amortisman tabi demirbaşların (tekne, ağılar, mekanik ve elektronik ekipman) amortisman değerleri, doğru hat yöntemiyle (Shang, 1981; De Stefano ve ark., 2006; Atay ve Korkmaz, 2011) hesaplanmıştır. Sermayenin fırsat maliyeti, resmi bankaların ortalama nominal faiz haddi (%10) esas alınarak reel faiz olarak hesaplanmıştır.



Şekil 1. Sinop ilinde araştırmanın yürütüldüğü liman ve barınaklar

Figure 1. Research harbours and shelters in Sinop Province



Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin yerel sosyo-ekonomik göstergeleri, Anonymous (1999 ve 2001), Franquesa ve ark. (2001) ve Sabatella ve Franquesa (2004)'e göre hesaplanmıştır.

#### **Teknik Göstergeler**

- VFP (Teknenin Fiziksel Verimliliği): Teknelerin ortalama avı (kg/Tekne).
- PFP (Gücün Fiziksel Verimliliği): Teknedeki birim motor gücüne düşen av (kg/HP).
- CFP (Kapasitenin Fiziksel Verimliliği): Tekne birim kapasitesine düşen av (kg/GRT).
- MFP (İnsanın Fiziksel Verimliliği): Teknede istihdam edilen insana düşen av (kg/Kişi).
- HFP (Av Saatinin Fiziksel Verimliliği): Teknenin av saatine düşen av (kg/Saat), burada (kg/Gün).

#### **Ekonomik Göstergeler**

- PV (Tekne Verimliliği): Her teknenin karaya çıkardığı avın ilk satış değeri (TL/Tekne).
- PP (Güç Verimliliği): Teknenin birim gücüne düşen avın ilk satış değeri (TL/HP).
- PGT (Kapasite Verimliliği): Teknenin birim kapasitesine düşen avın ilk satış değeri (TL/GT).
- MP (İnsan Verimliliği): Teknede istihdam edilen insana düşen avın değeri (TL/İnsan).
- PVH (Av Saatinin Verimliliği): Avlama saatine düşen avın değeri (TL/Av Saati), burada (TL/Gün).
- IC (Yatırım Sermayesi): Avlama faaliyetine yatırılan teknelerin sermayesi (TL).
- OP (Fırsat Maliyeti): Tekne sahibinin parasını avlama faaliyetine değil de başka bir işe yatırmış olması (örneğin; bir bankaya faize) durumunda kazanacağı miktar (TL).
- GEP (Brüt Fayda=Brüt Nakit Akış): Fırsat maliyeti dâhil diğer bütün balıkçılık

giderleri düşüldükten sonra tekne sahibinin kazancı (TL).

- NEP (Net Fayda=Net Nakit Akış): Brüt faydadan amortisman gideri düşüldükten sonra tekne sahibinin kazancı (TL).
- PR (Kâr Oranı): Fırsat maliyeti eklenmiş yıllık net faydanın yatırım sermayesine yüzde oranı [ $\{(Net\ Fayda+Fırsat\ Maliyeti)/Yatırım\ Tutarı\} * 100$ ].
- GAV (Brüt Katma Değer): Av filosunun incelenen bölümünün ulusal ekonomiye yaptığı katkı (=ücretler+kâr+fırsat maliyeti+amortisman) (TL).

#### **Sosyal Göstergeler**

- SC (Ücret Gideri): Balıkçıların geliri (TL).
- AW (Ortalama Ücret): Teknede istihdam edilen personelin ortalama ücreti (TL).

#### **Pazar Göstergeleri**

- LP (Karaya Çıkarılan Avın Fiyatı): Karaya çıkarılan avın ortalama birim fiyatı (TL/kg).

### **Bulgular ve Tartışma**

#### **Balıkçı Filosunun Yapısal ve Teknik Özellikleri**

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı filosunun çoğunluğunu (%79.54) trol-gırgır tekneleri oluşturmaktadır. Tam boyu en büyük (47 m), yaşı en küçük (8 yıl), motor gücü (1900 HP), tonajı (448 GRT), tayfa sayısı (25 tayfa), taşıma işçisi sayısı (15 işçi), avlanma günü (240 gün), av miktarı (3073 t) ve mazot tüketimi (180 t) en yüksek olan balıkçı teknesinin gırgır teknesi olduğu belirlenmiştir. Gırgır teknesini sırasıyla trol-gırgır ve trol tekneleri izlemektedir. En fazla tür (ortalama 7.2 tür) avlayan tekneler, trol-gırgır tekneleridir. Toplam istihdamın en yüksek olduğu balıkçı tekneleri trol-gırgır (317 balıkçı), en düşük olduğu balıkçı teknesi ise gırgır (42 balıkçı) teknesidir (Tablo 1).

#### **Endüstriyel Balıkçı Teknelerinin Gider Yapısı**

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin toplam giderleri (gırgır: 1 999 307.55 TL, trol: 121 594.88 TL, trol-gırgır: 478 306.31 TL) içerisinde en yüksek gider kalemini oran olarak işçilik gideri (gırgır: %42.46, trol: %29.83, trol-gırgır: %32.81) oluşturmuştur. İşçilik giderini sırasıyla satış gideri ve mazot gideri izlemiştir (Tablo 2).

**Tablo 1.** Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı filosunun yapısal ve teknik özellikleri ( $\bar{X} \pm S_f$ )**Table 1.** Structural and technical characteristics of the industrial fishing fleet in Sinop Province ( $\bar{X} \pm S_f$ )

<b>Filo Yapısı ve Özellikleri</b>	<b>Gırgır</b>	<b>Trol</b>	<b>Trol-Gırgır</b>
Tekne boyu (m)	47.00	15.52 $\pm$ 1.55 (12.00-24.80)	20.97 $\pm$ 1.25 (12.00-42.50)
Tekne yaşı (Yıl)	8.00	16.37 $\pm$ 1.60 (11.00-24.00)	16.03 $\pm$ 1.11 (6.00-36.00)
Teknenin motor gücü (HP)	1 900.00	320.00 $\pm$ 65.00 (145.00-700.00)	613.00 $\pm$ 81.00 (145.00-2100.00)
Teknenin tonajı (GRT)	448.00	21.60 $\pm$ 5.30 (10.50-52.00)	72.10 $\pm$ 13.80 (10.00-430.00)
Tayfa sayısı (Adet)	25.00	4.00 $\pm$ 0.40 (3.00-6.00)	5.30 $\pm$ 0.30 (3.00-10.00)
Taşıma işçisi sayısı (Adet)	15.00	0.75 $\pm$ 0.75 (0.00-6.00)	2.71 $\pm$ 0.64 (0.00-14.00)
Avlanan tür sayısı (Adet)	6.00	5.10 $\pm$ 0.50 (2.00-7.00)	7.20 $\pm$ 0.30 (4.00-12.00)
Avlanma günü sayısı (Gün)	24 000.00	213.7 $\pm$ 10.5 (180-240)	228.60 $\pm$ 3.30 (150-240)
Av miktarı (t)	3 073.90	3.50 $\pm$ 0.70 (1.40-73.91)	428.30 $\pm$ 126.90 (1.69-3.635.35)
Mazot tüketimi (t/yıl)	180.00	13.30 $\pm$ 4.40 (5.00-43.00)	39.00 $\pm$ 6.10 (6.00-160.00)
Toplam istihdam (Kişi)	42	46	317

**Tablo 2.** Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı filosunun gider dağılımı (%)**Table 2.** Cost distribution of the industrial fishing fleet in Sinop Province (%)

<b>Gider Kalemleri</b>	<b>Gırgır</b>	<b>Trol</b>	<b>Trol-Gırgır</b>
Yiyecek	1.75	2.26 $\pm$ 0.45	3.00 $\pm$ 0.35
Giyisi	0.23	0.34 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.02
Mazot ve yağ	14.83	16.28 $\pm$ 1.78	14.59 $\pm$ 0.90
Kasa	2.40	0.50 $\pm$ 0.22	2.74 $\pm$ 0.29
Buz	0.00	0.45 $\pm$ 0.04	0.34 $\pm$ 0.04
Satış giderleri*	20.51	19.47 $\pm$ 0.71	25.00 $\pm$ 1.17
İşçilik	42.46	29.83 $\pm$ 1.97	32.81 $\pm$ 2.03
Bakım-onarım	3.15	9.13 $\pm$ 0.93	5.59 $\pm$ 0.45
Diğer giderler	0.01	0.31 $\pm$ 0.13	0.56 $\pm$ 0.18
Fırsat maliyeti	8.52	9.43 $\pm$ 0.81	7.98 $\pm$ 0.62
Amortisman	6.14	12.00 $\pm$ 0.80	7.18 $\pm$ 0.49
<b>Toplam</b>	<b>1 999 307.55 TL</b>	<b>121 594.88 TL</b>	<b>478 306.31 TL</b>

\*Komisyon, vergi, rüsum ve harç giderlerini kapsar. Exchange Rate: 1 USD=1.46 TL

### **Endüstriyel Balıkçı Teknelerinin Yerel Sosyo-ekonomik Göstergeleri**

#### **Teknik Göstergeler:**

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinden gırgır teknesi; VFP (3 073 910 kg), PFP (1 617.85 kg/HP), CFP (6 861.41 kg/GRT), HFP (12 807.96 kg/Gün) ve MFP (73 188.33 kg/İnsan) bakımından trol ve trol-gırgır teknelerinden daha iyi performans sergilemiştir (Tablo 3).

#### **Ekonomik Göstergeler:**

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinden gırgır teknesi PV (2 050 400.00 TL), PP (1 079.16 TL/HP), PVD (8.543,33 TL/Gün), IC (3 113 500.00 TL), OP (170 308.45 TL), GAV (1 145 587.05 TL) ve GEP (173 907.95 TL) bakımından en iyi ekonomik performansı göstermesine karşılık, NEP (51 092.45 TL) bakımından trol-gırgırların yarısı kadar performans göstermiştir. Ekonomik göstergeler bakımından en düşük performansı trol tekneleri göstermiştir. PR bakımından da gerek gırgır (%7.11) gerekse trol (%4.18) tekneleri alternatif yatırım araçlarından daha düşük getiri sağlamışlardır. Trol-gırgır teknelerinin ekonomik göstergeler bakımından en iyi performansı gösteren balıkçı tekneleri olduğu saptanmıştır (Tablo 4).

#### **Sosyal Göstergeler:**

İstihdam edilen her balıkçı tarafından elde edilen ortalama ücretin ve ücret giderinin en yüksek olduğu balıkçı teknelerinin gırgır teknesi (sırasıyla 25 883.84 TL/Balıkçı ve 848 863.60 TL), en düşük olduğu balıkçı teknelerinin ise trol tekneleri (sırasıyla 5 893.56 TL/Balıkçı ve 36 259.58 TL) olduğu belirlenmiştir (Tablo 5).

#### **Pazar Göstergeleri:**

Karaya çıkarılan avın birim fiyatının en yüksek olduğu (3.81 TL/kg) balıkçı teknelerinin trol tekneleri, en düşük olduğu (0.67 TL/kg) balıkçı teknesinin ise gırgır teknesi olduğu saptanmıştır (Tablo 6).

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin sosyo-ekonomik göstergelerine yönelik daha önce yapılmış çalışma olmadığından mevcut durumu karşılaştırmak mümkün olmamakla birlikte, Çeliker ve ark. (2006)'nın Karadeniz Bölgesi'ndeki balıkçı teknelerinin ekonomik özelliklerine ilişkin bazı sonuçlar karşılaştırılabilir.

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinden trol teknelerinin yaşı (16.37 yıl) Karadeniz Böl-

gesi'ndeki trol teknelerinin yaşı (16.90 yıl) ile benzer, trol-gırgır teknelerinin yaşı (16.03 yıl) ise Karadeniz Bölgesi'ndeki trol teknelerinden daha büyüktür (12.53 yıl). Gırgır teknesi motor gücü (1900 HP) bakımından Karadeniz Bölgesi teknelerine (477.86 HP) göre 4 kattan fazla güçlüdür. Ancak bu durumun Sinop'taki gırgır teknesi sayısının (1 adet) az olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinden gırgır teknesi PV (2 050 400.00 TL) bakımından ildeki trol (116 596.00 TL) ve trol-gırgır (583 825.00 TL) teknelerinden daha yüksek, Karadeniz Bölgesi gırgır teknelerinin ortalama brüt gelirin (889 949 TL) iki katından fazladır. Bu farklılığa, Sinop'taki gırgır teknesinin boyunun (47 m), Karadeniz Bölgesi'ndeki gırgır teknelerinin ortalama boyundan (27.89 m) çok büyük olmasının neden olduğu düşünülmektedir. Gırgır teknesi kapasite bakımından trol-gırgır teknelerinin 6 katı, trol teknelerinin de 2 katı olmasına rağmen, PGT ve MP açısından trol-gırgır teknelerinden düşük performans göstermiştir. Çünkü gırgır teknesi tam boy bakımından Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin en büyüğü olup, kapasitesi (tonajı) ve istihdamı da yüksektir. Ayrıca, trol-gırgır tekneleri gırgır ağı dışında trol ağı da kullandığından, fiyat açısından daha değerli dip balıklarının avlamaları da bu farklılıkta rol oynayabilir.

Gırgır teknesi toplam istihdamın, yatırım sermayesinin ve fırsat maliyetinin en yüksek olduğu balıkçı teknesi olduğundan, yarattığı GAV (1 145 587.05 TL), trollerin 23 katı, trol-gırgırların ise 3 katından fazla olmuştur. Yüksek GAV yaratmış olan gırgır teknesi boyca büyük olduğundan, yatırım sermayesinin fırsat maliyeti ve amortismanı da yüksektir. Bu nedenle, PR bakımından alternatif yatırım araçlarından düşük getiri (%7.11) sağlamıştır. Trol tekneleri ise NEP (-4 998.70 TL) bakımından negatif performans göstermişler ve PR açısından da alternatif yatırım araçlarından düşük getiri sağlamışlardır. Trol teknelerinin ekonomik göstergeler bakımından düşük performans gösterdikleri gibi gırgır ve trol-gırgır teknelerine göre istihdam edilen balıkçılara da daha düşük sosyal katkı sağlamışlardır. Benzer durum, Foça (İzmir) (Ünal, 2002), Kerala (Hindistan) Xavier (2014), Fransa, Norveç ve Almanya (Tietze ve ark., 2005) trol balıkçılığında da gözlenmiştir. Taşucu trol balıkçılığında ise pozitif ekonomik performans kaydedilmiştir (Rad ve Delioğlan, 2008). Sinop ilindeki trol-gırgır tekne-

leri NEP (105 618.70 TL) bakımından en iyi performansını gösteren balıkçı tekneleridir. Nitekim PR bakımından da alternatif yatırım araçlarının

getirisinden daha yüksek oranda (%28.57) bir getiri sağlamışlardır.

**Tablo 3.** Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin teknik göstergeleri ( $\bar{X} \pm S_x$ )

**Table 3.** Technical indicators of the industrial fishing vessels in Sinop Province ( $\bar{X} \pm S_x$ )

Teknik Göstergeler	Gırgır	Trol	Trol-Gırgır
VFP	3 073 910	35 056 $\pm$ 7 527 (13 990-73 910)	428 310 $\pm$ 126 918 (16 880-3 635 650)
PFP	1 617.85	124.03 $\pm$ 32.27 (60.83-335.42)	479.57 $\pm$ 84.57 (65.18-1 731,12)
CFP	6 861.41	1 943.26 $\pm$ 479.40 (950.14-4 632)	4 207.15 $\pm$ 659.56 (707.23-16 120.74)
HFP	12 807.96	165.83 $\pm$ 33.57 (66.62-307.96)	1 803.64 $\pm$ 527,90 (73.39-15 147.29)
MFP	73 188.33	6 238.75 $\pm$ 1 195.05 (3 231-12 159)	33 755.02 $\pm$ 6 884.21 (2 779.17-139 821.15)

**Tablo 4.** Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin ekonomik göstergeleri ( $\bar{X} \pm S_x$ )

**Table 4.** Economic indicators of the industrial fishing vessels in Sinop Province ( $\bar{X} \pm S_x$ )

Ekonomik Göstergeler	Gırgır	Trol	Trol-Gırgır
PV	2 050 400.00	116 596.00 $\pm$ 22 013.00 (69 005-254 422)	583 825.00 $\pm$ 100 925.00 (73 611-2 275 437)
PP	1 079.16	382.62 $\pm$ 31.58 (300.02-562.37)	889.03 $\pm$ 84.23 (316.67-2 426.14)
PGT	4 576.79	5 989.69 $\pm$ 549.43 (3 386.30-807.70)	8 674.49 $\pm$ 646.50 (3 293.53-20 929.77)
MP	48 819.05	19 943.28 $\pm$ 960.87 (15 966.67-24 720.00)	56 657.19 $\pm$ 5 993.00 (14 166.67-135 260.42)
PVD	8 543.33	543.40 $\pm$ 89.17 (316.67-1 060.09)	2 491.46 $\pm$ 416.20 (320.05-9 480.99)
IC	3 113 500.00	206 419.00 $\pm$ 40 822.00 (114 150-420 900)	606 700 $\pm$ 113 438 (92 350-3 242 525)
OP*	170 308.45	11 291.10 $\pm$ 2 232.95 (6 244.00-23 023.23)	33 186.48 $\pm$ 6 205.04 (5 051.54-17 366.12)
GEP	173 907.95	8 790.32 $\pm$ 2 707.54 (652.79-22 488.77)	133 231 24 $\pm$ 29 616.97 (-12 069.84-896 916.49)
NEP	51 092.45	-4 998.70 $\pm$ 3 720.2 (-18 750.42-13 488.01)	105 618.70 $\pm$ 28 228.37 (-34 588.66-839 208.07)
PR	7.11	4.18	28.57
GAV	1 145 587.05	58 838.92 $\pm$ 8 863.19 (36 143.35-109 650.63)	350 358.64 $\pm$ 65 340.35 (34 737.32-1 454 701.79)

\*Nominal Ulusal faiz %10 alınmış ve reel faiz hesaplanmıştır. Exchange Rate: 1 USD=1.46 TL



**Tablo 5.** Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin sosyal göstergeleri ( $\bar{X} \pm S_f$ )**Table 5.** Social indicators of the industrial fishing vessels in Sinop Province ( $\bar{X} \pm S_f$ )

Sosyal Göstergeler	Gırgır	Trol	Trol-Gırgır
AW (TL/Kişi)	25 883.84	5 893.56 $\pm$ 438.07 (4 500.00-8 571.43)	22 352.04 $\pm$ 4 725.01 (4 638.33-132 763.85)
SC (TL)	848 863.60	36 259.58 $\pm$ 7 470.50 (18 000.00-77 648.89)	189 514.85 $\pm$ 44 545.12 (20 000.00-1 065 346.95)

Dünyada farklı avlama sahalarında avlama filoları negatif ekonomik performans gösteren ülkeler, sürdürülebilir gelişme ve sürdürülebilir balıkçılık kapsamında avlama filolarını sayıca ve kapasite olarak küçültmeye yönelik politikalar uygulamayı sürdürmektedirler. Nitekim Türkiye'nin üyelik müzakereleri yaptığı Avrupa Birliği (AB) de çevresel, sosyal ve ekonomik sürdürülebilirlik çerçevesinde avlama filolarında sayı ve kapasite olarak küçülme politikasını devam ettirmektedir. AB Komisyonu'nun 2014 yılı Raporuna göre AB avlama filosu 2012 yılında tekne sayısında %1.6, tonajda (GT) %2 ve motor gücünde (kW) de %1 oranında küçülme gerçekleştirmiştir (Anonymous, 2014). 01.01.2014 yılı itibariyle 86 612 avlama gemisinden oluşan AB avlama filosu, 2008-2014 döneminde ortalama olarak sayıca %2, tonaj olarak (GT) %13 ve motor gücü (kW) bakımından da %6 küçülmüştür (Anonymous, 2015).

## Sonuç

Sonuç olarak, Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin %29.55'inin ekonomik göstergelerden NEP bakımından negatif performans gösterdiği belirlenmiştir. Bu teknelerin %75'i trol, %20'si de trol-gırgır tekneleridir. Bu tekneler, PR bakımından da alternatif yatırım araçlarının getirilerinden düşük getiri sağlamışlardır. Bu sonuçlara göre Sinop ilindeki endüstriyel balıkçı teknelerinin yaklaşık %30'u yapmış oldukları masrafları karşılayamayıp, zarar etmişlerdir. Bu balıkçı teknelerinden tam boyları 12.00-21.00 m arasında değişen 9 adedi, 12 Haziran 2012 Tarih ve 28 328 Sayılı Resmi Gazetede Yayımlanan "Balıkçı Gemisini Avcılıktan Çıkaranlara Yapılacak 2012/51 Nolu Destekleme Tebliği" kapsamında desteklemeden yararlanmak amacıyla Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'na müracaat etmişler ve balıkçılıktan çıkmışlardır. Türkiye'de balıkçılık kaynakları üzerindeki aşırı avlanma baskısını azaltmak, balıkçılık kaynaklarının ve balıkçılığın sürdürülebilir olmasına hizmet edecek balıkçılık yönetimi politikaları uygulanmasına yönelik uy-

gulamalar sürdürülmektedir. Şüphesiz bu pratik uygulamaların etkilerinin balıkçılıkla ilgili sosyo-ekonomik göstergelerde ne gibi değişiklikler yarattığının belirlenmesi gerekir.

## Teşekkür

Sinop ilindeki trol, gırgır ve trol-gırgır teknelerinin kaptanları veya işletenleri ile yüzyüze görüşmede yardımcı olan Sinop Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyesi Sn. Yrd. Doç. Dr. Yakup Erdem'e ve ankete katılan tüm balıkçılara teşekkürü borç biliriz.

## Kaynaklar

- Accadia, P. & Spagnolo, M. (2006). Socio-economic indicators for the Adriatic Sea demersal fisheries. *IIFET 2006 Portsmouth Proceedings*, 9 p. Retrived from <http://oregonstate.edu/dept/IIFET/html/353.pdf> (Accessed 11.09.2011)
- Anonim, (2009a). Sinop rehberi. Retrived from <http://www.sinoprehberi.org/sinopun-ekonomik-durumu> (Accessed 11.07.2010).
- Anonim, (2009b). Web Sitesi: Retrived from <http://www.sinop.gov.tr/sinop/ekonomi.asp?islem=balik> (Accessed 11.07.2010).
- TÜİK, (2012). Su ürünleri istatistikleri 2011. Tük Matbaası, Ankara, Yayın No: 3876, ISSN: 1013-6177, XIV+57 s.
- Anonymous, (1999). Indicators for sustainable development of marine capture fisheries. *FAO Technical Guidelines for Responsible Fisheries*. No. 8. Rome, FAO. 68 p. ISBN: 92-5-304333-7
- Anonymous, (2001). Spain: Methodology and use of socio-economic indicators for managing fisheries. *OECD Ed. Paris*, 22 p. Retrived from <http://www.oecd.org/spain/2639203.pdf> (Accessed 10.07.2010)
- Anonymous, (2014). Report From The Commission To The European Parliament and The

- Council on Member States' efforts during 2012 to achieve a sustainable balance between fishing capacity and fishing opportunities. EU COMMISSION, Brussels 29.4.2014, COM (2014), 233 Final, 16 p. Retrived from [http://ec.europa.eu/fisheries/cfp/fishing\\_rules/fishing\\_effort/official\\_documents/com\\_2014\\_233\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/fisheries/cfp/fishing_rules/fishing_effort/official_documents/com_2014_233_en.pdf) (Accessed 27.11.2015)
- Anonymous, (2015). The 2015 Annual Economic Report on the EU Fishing Fleet (STECF-15-07). 2015. Publications Office of the European Union, Luxembourg, EUR XXXX EN, JRC XXX, 434 pp. Retrived from [https://stecf.jrc.ec.europa.eu/documents/43805/1034590/2015-07\\_STECF+15-07+-+AER+2015\\_JRCxxx.pdf](https://stecf.jrc.ec.europa.eu/documents/43805/1034590/2015-07_STECF+15-07+-+AER+2015_JRCxxx.pdf) (Accessed 26.11.2015)
- Atay, D., & Korkmaz, A. Ş. (2011). Balık üretim tesisleri ve plânlaması (Dördüncü Baskı). Ankara Üniv. Ziraat Fakültesi, Yayın No. 1586, Ders Kitabı No. 538, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, ISBN: 978-975-48-966-2, 363 s.
- Çeliker, S. A., Korkmaz, A. Ş., Dönmez, D., Gül, U., Demir A., Genç, Y., Kalanlar, Ş. & Özdemir, İ. (2006). Karadeniz Bölgesi'nde su ürünleri avcılığı yapan işletmelerin Sosyo-Ekonomik Analizi. *Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarım Ekonomisi Araştırma Enstitüsü (TEAE), Yayın No:143, Ankara, 122 s.* ISBN: 975-407-196-9
- De Stefano, V., Di Trapania, A.M. & Macaluso, D. (2006). Deep-sea shrimp fishery in Sicily: The economic performance of the shrimp trawling fleet in the ports of Mazara del Vallo, Sciacca, and Porto Empedocle. *Chemistry and Ecology*, 22, 433-442. doi: 10.1080/02757540600571877
- Ferraris, J. (2002). Fishing fleet profiling methodology. *FAO Fish. Tech. Pap., No:423, Rome, FO, 87 p.* ISBN: 92-5-104698-0
- Franquesa, R., Malouli, I.M. & Alarcón, J.A. (2001). Feasibility assessment for a database on socio-economic indicators for Mediterranean fisheries. Studies and Reviews. General Fisheries Commission for the Mediterranean. No. 71. Rome, FAO. 55p. ISBN: 92-5-104643-3
- Le Gallic, B. (2002). Fisheries sustainability indicators: The OECD Experience. "Tools for measuring integrated fisheries policy aiming at sustainable ecosystem". October 28-29, 2002, Brussels (Belgium). Retrived from <http://www.oecd.org/tad/fisheries/2507611.pdf> (Accessed 20.06.2006).
- Rad, S. & Delioğlan, Ş. (2008). Taşucu trol teknelerinin ekonomik yapısı ve performansı. *Journal of FisheriesSciences.com*, 2(3): 216-223. doi: 10.3153/jfscom.mug.200705.
- Sabatella, E. & Franquesa, R. (2004). Manual of fisheries sampling surveys: methodologies for estimations of socio-economic indicators in the Mediterranean Sea. Studies and Reviews. GFCM, No: 73, Rome, FAO. 37 p. ISBN: 92-5-105093-7
- Shang, Y.C. (1981). Aquaculture economics: basic concepts and methods of analysis. Westview Press Inc., Boulder, Colorado, USA, 153 p. ISBN: 0-86531-047-5
- Tietze, U., Thiele, W., Lash, R., Thomsen, B. & Rihan, D. (2005). Economic performance and fishing efficiency of marine capture fisheries. FAO Rome, Fish. Techn. Pap. 482. 68p. ISBN: 92-5-105324-3
- Ünal, V. (2002). Trol balıkçılığında yatırımın kârlılık analizi, Foça (the Aegean Sea). *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(3-4), 411-418.
- Ünal, V. & Franquesa, R. (2010). A comparative study on socio-economic indicators and viability in small-scale fisheries of six districts along the Turkish coast. *Journal of Applied Ichthyology*, 26(1), 26-34. doi: 10.1111/j.1439-0426.2009.01346.x
- Xavier, S. (2014). Decline in marine fishery resources of the trawler sector in Kerala –An Economic analysis. *IOSR Journal of Economics and Finance*, 5(3), 40-44.
- Yamane, T. (2001). Temel örnekleme yöntemleri (Çevirenler: A. Esin, C. Aydın, M. A. Bakır ve E. Gürbüzsel), *Literatür Yayınları, Yayın No: 53, İstanbul, 505 s.* ISBN: 975-8431-34-X