

E-ISSN: 2548 - 1150, Volume 3(2) August 2018



VET BIO



JOURNAL OF ADVANCES IN
VETBIO SCIENCE AND
TECHNIQUES



EDITORIAL ARCHIVE**Editors-in-Chief**

İlker CAMKERTEN, University of Aksaray

Hikmet ÜN, University of Aksaray

Managing Editors

Caner ÖZTÜRK, University of Aksaray

Gaye BULUT, University of Aksaray

Associate Editors

Suat DİKEL, University of Çukurova, Fisheries

Güzin CAMKERTEN, University of Aksaray, Basic Sciences

Kerem URAL, University of Adnan Menderes, Clinical Sciences

Editorial Board Members

Zbigniew ADAMIAK, University of Warmia-Mazury, Poland

İbrahim AKIN, Language, University of Adnan Menderes, Türkiye

Mehmet AVCI, University of Harran, Şanlıurfa, Türkiye

Mehmet ÇABALAR, University of Harran-PreClinical Sciences, Türkiye

Hesham A. EL ENSHASY, Institute of Bioproduct Development (IBD),
Universiti Teknologi Malaysia (UTM), Malaysia

Hasan ERDOĞAN, Statistics, University of Adnan Menderes, Türkiye

Mehmet GÜLTEKİN, Statistics, University of Adnan Menderes, Türkiye

Hilal KARAGÜL, University of Ankara, Ankara, Türkiye

Journal of Advances in **VetBio** Science and Techniques is aimed to serve as scientific research journal.

VetBio is a **triannual** (April, August, and December), open access, and fully refereed **international** journal.

VetBio is to publish high-quality scientific research articles on all animal-related fields including science branches such as veterinary medicine, fisheries, food science, biological sciences, and zoology. In addition, short communications and reports, case reports, letter to the editor and reviews are also accepted. Publishing languages are Turkish and English. The editorial policy of the journal is based on independent, unbiased, and **double-blind** peer-review. The **VetBio** **does not charge** submission, processing or publication fee.

VetBio has been **indexed** by Academic Research Index (**Research Bib**), **Google Scholar**, Root Society for Indexing and Impact Factor Service (**Rootindexing**), Eurasian Scientific Journal Index (**ESJI**), **Cosmos** Impact Factor, Scientific Indexing Services (**SIS**), Directory of Open Access Scholarly Resources (**ROAD**), Academia Social Science Index (**ASOS**) and, **OpenAIRE** databases.

This work is licensed under a [Creative Commons Attribution 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Pressed Date: August 2018

Copyright © 2018 VetBio



Hosted by

DergiPark
AKADEMİK

İlker Çamkerten
Publisher

Editorial Board Members

Muhammed KATICA, University of Srajevo, **Bosnia&Herzegovina**

Koycho KOEV, University of Stara zagora, **Bulgaria**

Halil SELCUKBİRİCİK, University of Aksaray, **Türkiye**

Tevhide SEL, University of Ankara, **Türkiye**

Przemysław SOBIECH, University of Warmia-Mazury, **Poland**

Ilia TSHACEV, University of Stara zagora, **Bulgaria**

Deniz ALIÇ URAL, University of Adnan Menderes – Zootechnics, **Türkiye**

Katarzyna ŻARCZYŃSKA, University of Warmia-Mazury, **Poland**

Layout, Page Design, Typesetting

Faruk KAHRAMAN

Abdurrahman LÜLECI

Fatih USTA

**Sur-names are listed alphabetically*

Address

Managing address:

Aksaray Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Adana Yolu 7. Km Merkez Kampüs 68100

Aksaray/TÜRKİYE

e-mail: ejavst@gmail.com

Web Page: <http://dergipark.gov.tr/vetbio>

Tel: 05536203468



CONTENTS

Research Articles

Determination of heavy metal pollution in honey samples collected from Ardahan and counties
Hüsamettin EKİCİ, Kemal YAZICI 1-7

A comparison of activating solutions with hatchery water in artificial insemination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)
Burak Evren İNANAN, Ümit ACAR, Hüseyin URÇUK, Ersin ÇELİK 8-15

Klinoptilolit kuzularda giardiazis sağaltımına yönelik alternatif ve doğal bir çözüm olabilir mi?
Adnan AYAN, Deniz ALIÇ URAL, Serdar PAŞA, Songül ERDOĞAN, Hasan ERDOĞAN 16-20

Marmara ve Karadeniz Bölgesi istavrit karaciğerinde GPx, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve vitamin A değerleri
Güzin ÇAMKERTEN ve Hilal KARAGÜL 21-29

Karadeniz barbunya balığının (*Mullus barbatus ponticus*) ilk üreme boyunun tahmini
Yakup ERDEM 30-37

Letter to Editor

Pnömonili danalarda L-laktat konsantrasyonları
Hasan ERDOĞAN, Songül ERDOĞAN, Tahir ÖZALP, İsmail GÜNAL, Kerem URAL 38-42

Determination of heavy metal pollution in honey samples collected from Ardahan and counties

Research Article

Abstract

In this study the concentrations of some elements in 180 honey samples were investigated. Samples were obtained from beekeepers of all the counties of Ardahan province (Center, Hanak, Çıldır, Göle, Damal) in 2015. The levels of Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr and Zn elements in honey samples were determined by ICP-OES instrument. The samples were digested in microwave oven using nitric acid and hydrogen peroxide. The mean concentration of elements and the lowest and highest values were determined. Of the samples analysed; Cd, Co, Cr and Pb values were found below the detection limit. As a result of analysis, the concentration of elements in honey samples were detected as $124,863 \pm 313,44$ ppb, $1227,56 \pm 892,22$ ppb, $67,352 \pm 34,636$ ppb, $6484,904 \pm 2078,892$ ppb, $302,551 \pm 323,329$ ppb, $4,636 \pm 3,943$ ppb, $3118,69 \pm 835,149$ ppb and $10,535 \pm 14,73$ ppb, for Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na and Sr respectively. To conclude, the concentrations of detected heavy metals in collected honey samples were below the maximum residue limits of some international residue limits. Therefore it would not pose a risk to human health.

Key Words: ICP-OES, honey, element, pollution, Ardahan

Hüsamettin EKİCİ¹
Kemal YAZICI²

¹ Department of
Pharmacology and
Toxicology, Faculty of
Veterinary Medicine,
Kırıkkale University, 71450,
Kırıkkale, Turkey

² Program of Beekeeping,
Department of Plant and
Animal Production, Posof
Vocational School, Ardahan
University, 75800, Ardahan,
Turkey

Correspondence

Hüsamettin EKİCİ
Department of Pharmacology and
Toxicology, Faculty of Veterinary
Medicine, Kırıkkale University,
71450, Kırıkkale, Turkey
hekici@kku.edu.tr

Article Info

Received: 19-03-2018
Accepted: 25-08-2018

Copyright © 2018 VetBio

Introduction

Beekeeping is one of the most ancient and widespread production activities in Turkey. Turkey has rich vegetation and different climatic zones and an important potential for bee colony existence, so beekeeping is an important activity for Turkey (Boluktepe and Yilmaz, 2008; Parlakay et al., 2008).

Honey is among the most ancient nutrients. It has been used as an important source of food supplying energy and used instead of drugs in many diseases for thousands of years (Samarghandian et al., 2017). The mineral content of honey is stated to be low (Mendes et al., 2006). The average mineral content of nectar originated honey have been determined as % 0,169, on the other hand the secretion honey kinds are rich in mineral content (Samarghandian et al., 2017). It is possible to detect elements like calcium, phosphor, chlorine, sulphur, magnesium, manganese, silica, sodium and most particularly potassium in honey. Besides, trace elements such as copper, zinc, iron, iodine, which are important for living beings, can be found in small amounts in honey (Mendes et al., 2006; Samarghandian et al., 2017).

The concentration of metals in honey are affected from some factors. Primarily, the mineral rates vary in flower honey kinds just according to the herbal source (Herrero et al., 2017). The mineral rate in any plant shows dependency on the soil that plant grows up, material inside the soil, kind of the plant and to the environmental factors during the manuring and development period (Kaya and Pirincci, 2002). In addition, the acidity of the soil affect the mineral rate in plants. Infact the plants growing in acidic soils cause Pb, Mn, Fe, and Zn poisoning, and the calcic and the high pH rates of the soil reduce solubility of these elements (Vicil et al., 2012).

Techniques using bioindicators have gained importance in recent years in the identification and

observation of environmental pollution. Up to the acquired scientific datas, choosing a relevant organism a bioindicator constitutes an important step of the observation activity. Because bioindicator living beings are beings responding differently against various polluting agents, they can hold the polluting agents for a long time by storing them in their bodies (Conti and Botre, 2001). Honey bees are good biological indicators. Bees show the chemical deterioration in environment by the high death rates in their population or storing the polluters in their bodies. With a proper laboratory analysis the polluters which cause pollution on bees and bee products can be identified (Porrini et al., 2003).

It has been able to produce pretty good quality of honey in different parts of Turkey. Furthermore, it has been stated that %75 percent of the required plant flora for honey is available in Turkey (Sancak et al., 2013). Beekeeping has been stated to be among the occupational sectors which are important and have economical dimension for Ardahan Province. The number of the people dealing with beekeeping is % 0,2 percent of Turkey in Ardahan province (Aygün and Akbulak, 2017).

The aim of this study is to detect and make comparison of some element concentrations in honey samples collected in Ardahan province which is known to let beekeeping carried out intensively in Turkey. The data that obtained from the study will help to show the level of enviromental pollution, and evaluate the importance of this subject in terms of public health.

Material and Method

The honey samples were collected in 2015 from Ardahan Province and its counties (Centre, Hanak, Posof, Cildir, Gole and Damal) A total of 180 samples, 30 from each locations, were obtained. 100 grams of honey samples were taken into sample containers, the contact between air and honey were prevented by securing the covers of

the sample containers tightly. The samples were stored in dark, under room temperature until the analysis were carried out.

The process of extraction was carried out according to the method advised by Yucel and Sultanoglu (2013), and measurements were actualized in inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES, Spectroblue, Germany). According to this, 20 honey samples were taken from each sampling field and transferred into the sterilized tubes and in order to prevent crystallization. The samples were taken into the water tank (NÜVE ST 30, Turkey) which is 70 °C average for a while to hemogenize the honey samples. 0,5 g was taken from these samples, then 9 ml (HNO₃) %65 nitric acid and 1 ml %30 hydrogen peroxide were added. The samples were burned in a microwave device (CEM MARS 6 System 240/50, USA). The working conditions of the microwave device were given in Table 1. The burned samples were subtilized with 5 ml of pure water. The prepared blind (Blank) samples were applied with the same process.

Table 1. The working conditions of Microwave Device

Temperature and power	Time
At 70°C 400W	5 min.
At 100°C 800W	5 min.
At 150°C 800W	10 min.
At 200°C 800W	10 min.
Ventilation	10min.

The main stock solution (1000 mg/L) was prepared from ICP Multi-Element standard Solution IV (Merck Millipore, 111355, Darmstadt, Germany) including aluminum (Al), barium (Ba), calcium (Ca), cadmium (Cd), cobalt (Co), chrome (Cr), copper (Cu), iron (Fe),

potassium (K), magnesium (Mg), manganese (Mn), sodium (Na), nickel (Ni), lead (Pb) and Strontium (Sr) and Zinc (Zn) which were diluted with citric acid. Calibration standards have been prepared from this main stock solution as 0, 125, 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/L for Ba, Fe, Mg, Na, Ni and for the others as 0, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000 µg/L. The metal levels in honey were carried out by ICP-OES device in Kırıkkale University Centre for Scientific and Technological Researches and Applications. The device was calibrated with prepared calibration standards. The working conditions of the ICP-OES Device were given on Table 2.

Table 2: The working conditions of ICP-OES device.

Property	Value
Plasma Power:	1430 W
Coolant Flow:	13 L/minute
Nebulizer Flow:	0,75 L/minute
Pump Speed:	30 rpm
Auxiliary Flow:	0,80 L/minute

According to the analyses carried out, the limits of determination for the elements Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr and Zn were detected as 1.77 ppb; 0,112 ppb; 4,44 ppb; 0.0366 ppb; 0.289 ppb; 0.148 ppb; 0.51 ppb; 0.65 ppb; 63,5 ppb; 20,7 ppb; 0.375 ppb; 94 ppb; 0.649 ppb; 1.44 ppb; 1,27 ppb; 0.107 ppb, respectively.

“SPSS 15.0 for Windows” statistic packet programme was used for the statistical calculations. The data were explained by arithmetic mean ± standard deviation. The data were statistically evaluated by one-way analysis of variance (ANOVA). If the *F* values were significant, Duncan’s Multiple Range Test was

performed to identify the specific differences between the metal accumulation means at a probability level of $P < 0.05$.

Results

The means and standard deviation of the ash contents of 180 honey samples for Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na and Sr were found as 124.86 ± 313.44 ppb, 1227.56 ± 892.22 ppb, 67.35 ± 34.63 ppb, 6484.90 ± 2078.89 ppb, 302.55 ± 323.32 ppb, 4.63 ± 3.94 ppb, 3118.69 ± 835.14 ppb, 10.53 ± 14.73 ppm, respectively. The Cd, Co, Cr and Pb levels of the analyzed samples were all below the detection limit. Ba were found only in samples taken from Çıldır County, Ni were found under determination limit in counties of Çıldır and Göle.

The mean concentrations of minerals in Centre, Çıldır and Damal were as follows: $Mn < Sr < Fe < Al < Mg < Ca < Na < K$; the mean concentrations of minerals in Göle and Horat and Posof were as follows: $Mn < Sr < Al < Fe < Mg < Ca < Na < K$. There were statistically significant differences ($p < 0,05$) in Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn and Na concentrations in terms of mean element levels; but no statistical difference ($p < 0.05$) was found for Sr. Statistical comparisons were calculated for regional differences (Table 3).

Discussion

The increase in the industrial activities and the human population cause environmental pollution. The problems due to environmental and food pollution pose a threat to the public health. There can be elemental residue problem at a potentially toxic level in nutrients which are essential for human and living beings. Just because of the mining and industrialization, poisonous materials can join into the environment thereby into the food chain of human and animal. Toxic elements are intensively used in various industrial sectors and used as an agricultural fertilizer (Leita et al., 1996; Vicil et al., 2012).

Just like the animals, the plants need some minerals throughout their progress. Taking these elements in high levels may cause poisonings both in plants and living beings. Plants may store the elements in their structures which are not necessary for their progress and for their growth. The animals feeding with these plants may accumulate these elements in their tissues. This may cause residue problem in animal products. (Kaya and Pirincci, 2002). Throughout their life, the bees are constantly in relation with environment. Thereby bees can be affected from these harmful materials. Consequently the pollutants can be found in honey and other bee products (Carmen and Cristina, 2001).

As the results obtained from this study were surpassed maximum Pb (1 mg/kg) and Cd (0.1 mg/kg) residue limits accepted by European Union and as any kind of residue limit was not determined for other metals, such a comparison was not done.

Different kinds of honey are produced in different regions of Turkey just peculiar to their plant flora. The element content of honey depends on the soil which shelters the plant with the nectar, the period the plant was grown, the climate, season and environmental pollution (Tuzen et al., 2007; Sultanoglu, 2011). The importance of determining the element content of honey have been gaining importance. Thereby, it has been thought that bees and bee products can be important indicators for observation of environmental pollution (Przybylowski and Wilczyńska, 2001; Yucel and Sultanoglu, 2013). In a study carried out to determine the metal concentrations of honey samples taken from different parts of Italy, it was determined that the regional differences did not cause any problem in terms of Pb, Ni and Cr (Porrini et al., 2003).

The results of our study showed that the concentrations of Al was found pretty lower than the results obtained from a study carried out by Van Der Steen et al. (2012). When considered in terms of Cu, the

concentration of Cu was lower than the results obtained from a study carried out by Tuzen (2002), Demirezen and Aksoy (2005), Erbilir and Erdogrul (2005), Tuzen and Soylak (2005), Silici et al. (2008) and Van Der Steen et al. (2012). In terms of Fe, the concentrations were lower than the results obtained from a study carried out by Tuzen (2002), Erbilir and Erdogrul (2005), Tuzen and Soylak (2005), Silici et al. (2008) and Saghaei et al. (2012). The concentrations of Mn found in our study was lower than the results obtained from a study carried out by Tuzen (2002), Erbilir and Erdogrul (2005), Tuzen and Soylak (2005), Silici et al. (2008) and Van Der Steen et al. (2012); higher than a study carried out by Saghaei et al. (2012). Ni concentrations was found to be lower than the results of a study carried out by Porrini et al. (2003) and Van Der Steen et al. (2012).

The element concentrations, which are possible to determine in honey, can be affected from climate and seasonal conditions and flora and the physical conditions of the soil. In addition to this it is necessary to take the polluting factors, which can be exposed to in storage conditions and in production conditions, into consideration. The existence of elements in studies carried out upon honey samples in different levels can be attributed to these reasons above.

Conclusions

In this study, the honey samples were evaluated in terms of Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Sr and Zn. The results show that Cd, Co, Cr and Pb were under the determination limits of ICP-OES device. The results obtained from this study were under the maximum residue limits when compared with some other international limits. The samples analyzed does not pose any kind of danger against human health. Although the levels detected were below the permissible residue limits, beekeepers dealing with beekeeping will be able to have safer and more qualified products by practicing

beekeeping activities in fields that can be affected from pollution factors in minimum levels.

In addition to the studies being carried out across the country and the other studies which will be carried out intended to measure metal levels in bees and bee products, this study is qualified enough to help in determination of polluting sources and their distribution into the environment. This study can contribute other studies, which will be carried out in other regions and provinces, in the determination of possible element concentrations in honey.

Acknowledgments

This study was financially supported by the Scientific Research Project Coordination Unit of Kırıkkale University (KUBAP No: 2015/049). A part of this study was presented at the The 2nd International Conference on Advances in Veterinary Sciences and Technics on 4-8 October 2017, in Skopje, Macedonia.

References

- Aygun, G. and Akbulak, C. (2017).** Ardahan İli Organik Hayvancılık Potansiyelinin Değerlendirilmesi. *Dumlupınar University Journal of Social Sciences*, 53, 144-161.
- Boluktepe, F.E. and Yilmaz, S. (2008).** Arı Ürünlerinin Bilinirliği ve Satın Alınma Sıklığı. *Uludağ Bee Journal*, 8(2), 53-62.
- Carmen, A. and Cristina, M. (2001).** Environmental pollution and its effects on honey quality. *Romanian Biotechnological Letters*, 6(5), 371-379.
- Conti, M.E. and Botre, F. (2001).** Honeybees and their products as potential bioindicators of heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 69, 267-282.
- Demirezen, D. and Aksoy, A. (2005).** Determination of heavy metals in bee honey using by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). *Gazi University Journal of Science*, 18(4), 569-575.

- Erbilir, F. and Erdogru, Ö. (2005).** Determination of heavy metals in honey in Kahramanmaraş city, Turkey. *Environmental Monitoring and Assessment*, 109, 181-187.
- Herrero-Latorre, C., Barciela-Garcia, J., Garcia-Martin, S., Peña-Crecente, R.M. (2017).** The use of honeybees and honey as environmental bioindicators for metals and radionuclides: a review. *Environmental Review*, 25(4), 463-480.
- Kaya, S., and Pirincci, I. (2002).** Environmental Toxicology. In S. Kaya, I. Pirincci and A. Bilgili (eds), Toxicology in veterinary medicine. 2nd ed., Medisan, Ankara, Turkey, 731-764.
- Mendes, T.M., Bacchan, S.N., Cadore, S. (2006).** Sample treatment procedures for the determination of mineral constituents in honey by inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17(1), 168-176.
- Leita, L., Muhlbachova, G., Cesco, S., Barbattini, R., Mondini, C. (1996).** Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination. *Environmental Monitoring and Assessment*, 43, 1-9.
- Parlakay, O., Yilmaz, H., Yasar, B., Secer, A., Bahadır, B. (2008).** The Situation of Beekeeping in Turkey and the Future Expectations by the Trend Analysis Method. *The Journal of Agricultural Faculty of Uludag University*, 22(2), 17-24.
- Porrini, C., Sabatini, A.G., Grotti, S., Ghini, S., Medrzycki, P., Grillenzoni, F., Bortolotti, L., Gattavecchia, E., Celli, G. (2003).** Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. *Apiacta*, 38 (1), 63-70.
- Przybyłowski, P., & Wilczyńska, A. (2001).** Honey as an environmental marker. *Food chemistry*, 74(3), 289-291.
- Saghaei, S., Ekici, H., Demirbas, M., Yarsan, E., Tumer, I. (2012).** Determination of the metal contents of honey samples from Orumieh in Iran. *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Kafkas University*, 18(2), 281-284.
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F. (2017).** Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research. *Pharmacognosy Research*, 9(2), 121-127. <http://doi.org/10.4103/0974-8490.204647>
- Sancak, K., Sancak, A., Aygören, E., (2013).** Dünya’da ve Türkiye’de arıcılık. *Arıcılık Araştırma Dergisi*, 5(10), 7-14.
- Silici, S., Uluozlu, O. D., Tuzen, M., Soylak, M. (2008).** Assessment of trace element levels in Rhododendron honeys of Black Sea Region, Turkey. *Journal of hazardous materials*, 156(1-3), 612-618.
- Sultanoğlu, P. (2011).** Hatay İlinde Üretilen Balların Eser Element Düzeyleri ve Kemometrik Yöntemlerle Karakterizasyonu, Hatay, Turkey, Mustafa Kemal Üniversitesi, Thesis of MSc.
- Tuzen, M. (2002).** Determination of some metals in honey samples for monitoring environmental pollution. *Fresenius Environmental Bulletin*, 11(7), 366-370.
- Tuzen, M., and Soylak M. (2005).** Trace heavy metal levels in microwave digested honey samples from Middle Anatolia, Turkey. *Journal of Food and Drug Analysis*, 13(4), 343-347.
- Tuzen, M., Silici, S., Mendil, D., Soylak, M. (2007).** Trace element levels in honeys from different regions of Turkey. *Food Chemistry*, 103, 325-330.
- Van Der Steen, J.J., De Kraker, J., Grotenhuis, T. (2012).** Spatial and temporal variation of metal concentrations in adult honeybees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Monitoring and Assessment*, 184(7), 4119-4126.
- Vicil, S., Erdogan, S., Uygur, V. (2012).** Determination of Selected Essential and Toxic Element Concentrations in Soil, Plant, Sheep Blood and Wool Samples In Akdagmadeni County. *Journal of AVKAE*. 2(2), 51-52.
- Yucel, Y., and Sultanoglu P. 2013.** Characterization of Hatay honeys according to their multi-element analysis using ICP-OES combined with chemometrics. *Food Chemistry*, 140(1), 231-237.

Table 3: The concentrations (ppb) of analyzed elements up the counties (Ardahan Merkez, Cıldır, Damal, Göle, Horat, Posof).*

	Al	Ca	Fe	K	Mg	Mn	Na	Sr
Centre	81.18 ±58.55 ^a	1327.81±979.31 ^{bc}	67.42±19.17 ^b	5948.46 ±1574.51 ^{ab}	248.93 ±92.28 ^{ab}	3.47 ±2.61 ^{ab}	3135.09 ±450.47 ^b	8.84±5.14
	34.65-366.71	688.15-5271.15	30.86-105.47	3701.31-10874.1	162.46-699.72	1.22-13.19	2099.3-4433.79	5.04-30.42
Cıldır	60.23 ±22.21 ^a	798.55±216.27 ^a	45.73±17.84 ^a	5081.74 ±1439.31 ^a	206.30 ±37.83 ^a	2.80 ±2.59 ^a	2644.11 ±140.30 ^a	6.98±4.44
	35.36-132.94	80.29-1302.32	22.78-78.17	3219.93-8908.79	132.63-261.11	0.98-11.80	2332.12-2909.52	4.28-30.05
Damal	137.69 ±253.79 ^c	1185.28±1199.99 ^{ab}	60.52±18.15 ^{ab}	8097.80 ±2340.05 ^d	410.11 ±665.63 ^b	7.35 ±4.75 ^d	3263.5 ±1226.24 ^b	14.99±30.87
	43.63-1290.61	218.41-7454.01	31.21-93.04	5191.69-11749	182.03-3915.36	2.44-14.15	2722.4-9675.72	4.57-172.71
Göle	63.20 ±12.41 ^a	1148.13±617.49 ^{ab}	72.83±21.62 ^b	5493.47 ±653.98 ^a	260.24 ± 132.96 ^{ab}	3.13 ±2.35 ^a	3182.29 ±819.86 ^b	9.10±6.41
	47.28-97.86	740.82-4042.06	37.56-127.64	3631.02-6971.72	153.02-916.34	1.93-15.40	2349.38-7085.13	4.68-36.09
Horat	61.48 ±9.85 ^a	1204.12±815.59 ^{ab}	62.49±21.40 ^{ab}	6748.23 ±2402.79 ^{bc}	311.49 ±229.77 ^{ab}	5.27 ±4.63 ^{bc}	3122.34 ±686.69 ^b	10.60±10.10
	46.83-88.81	695.28-4261.2	25.58-122.23	3441.21-11596.3	157.82-1217.02	1.07-15.34	2667.41-5442.31	5.22-47.69
Posof	345.37 ±687.74 ^b	1699.10±983.92 ^c	95.10±63.87 ^c	7506.64 ± 1775.8 ^{cd}	378.22 ±299 ^{ab}	5.78 ±4.02 ^{cd}	3364.72 ±1055.12 ^b	12.68±12.43
	54.68-3715.37	897.06-5503.96	32.71-384.94	4520.94-12414.8	193.11-1875.51	1.63-19.35	2676.24-8684.44	6.29-76.60

*mean±Standard deviation and min-max

A comparison of activating solutions with hatchery water in artificial insemination of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Research Article

Abstract

In the propagation of rainbow trout, the available water supply used for incubation of fertilized egg is generally used for also spermatozoa being activated to reach eggs. The aim of the present study was to assess comparisons of the effects of two lab-made activating solutions and hatchery water on progressive sperm motility percentage (%), duration of progressive sperm motility (s), and fertilization success in artificial insemination of rainbow trout. For this purpose, an activating solution (A1) containing 60 mM NaHCO₃, 50 mM Tris (pH=9.0) and another activating solution (A2) containing 20 mM Tris, 30 mM glycine, 125 mM NaCl, (pH=9.0), and also hatchery water (HW) were used for activation of spermatozoa and fertilization. The average motility percentages of samples activated by HW, A1 and A2 were observed >90% with no significant differences, while the durations of progressive motility were found to be significantly different as 22.5±0.7 s, 30.0±1.4 s and 30.5±0.7 s respectively. The lowest average fertilization rate (64.6±1.4 %) was obtained using HW, while those values were 89.4±5.1 and 91.3±0.6 % using A1 and A2 respectively. Consequently, both motility durations and fertilization rates obtained by using A1 and A2 were significantly higher than those values of obtained by HW.

Key Words: Activating solutions, hatchery water, artificial insemination, rainbow trout

Burak Evren İNANAN¹
Ümit ACAR²
Hüseyin URÇUK³
Ersin ÇELİK³

¹Aksaray University, Eski Vocational School, Department of Veterinary Science, Aksaray, Turkey.

²Çanakkale Onsekiz Mart University, Bayramiç Vocational School, Department of Forestry, Çanakkale, Turkey.

³Muğla Sıtkı Koçman University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Department of Fisheries, Muğla, Turkey.

Correspondence

Burak Evren İNANAN

Aksaray University, Eski Vocational School, Department of Veterinary Science, 68100, Aksaray, Turkey.
burakinanan@aksaray.edu.tr

Article Info

Received: 18-02-2018

Accepted: 30-07-2018

Copyright © 2018 VetBio

Introduction

The reproductive function in teleosts fish is unique in several ways such as wide variation in the amount of spermatozoa produced, the periods during which spermatogenesis occurs differ widely (Billard, 1986). Moreover, in most of them, the sperm cells which are immotile in the testis are activated only after release into their living environment for a short period (from 30 s to several minutes) of forward motility (Scott and Baynes, 1980).

Motility of spermatozoa is the main reason affecting the fertilization success. This motility is generally initiated by osmolality in marine fish and many freshwater fish while spermatozoa of Salmonids and Acipenserids is activated by the low K^+ concentration (5 mM) in combination with osmolality. When spermatozoa released and meet with the natural medium (fresh water, sea or brackish water) their motility are limited by some factor such as temperature and pH, ions (Cosson, 2004; Alavi and Cosson, 2005; Alavi and Cosson, 2006). Spermatozoa directly released in the natural medium are subjected to also other factors such as thermic shock, micropollutants, and toxic residues. This stage of reproduction is very susceptible to being damaged (Billard, 1988).

Spermatozoa and eggs are simply put together and available water supply (fresh or salt water) as an external medium is generally added in artificial insemination.

Especially in the traditional propagation of freshwater species as a rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), hatchery water is used for spermatozoa being activated to reach eggs (Billard and Jensen, 1996).

The present investigation was conducted with the purpose of comparing the effects of two lab-made activating solutions and hatchery water on progressive sperm motility percentage (%), duration of progressive sperm motility (s), and fertilization success in artificial insemination of rainbow trout.

Materials and Methods

Fish and collection of the gametes

Female and male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) individuals were obtained from a commercial fish hatchery located in Muğla, Turkey. All fish were fed with the same diet. Gametes were collected during the spawning in December since it is accepted as middle of the spawning season for the region Six males (two years of age) and three females' (three years of age) gametes were obtained by gentle abdominal massage, avoiding any contamination Gamete collection does not harm the fish as a routine application in the fish farm. December is accepted as middle of the spawning season for the region. Both sperm and eggs samples were mixed and pooled samples obtained for each before the experiments.

Activating solutions, evaluation of the post-thaw motility of the spermatozoa and fertilization

An activating solution (A1, Billard, 1992) containing 60 mM sodium bicarbonate (NaHCO_3), 50 mM Tris pH=9.0 and another activating solution (A2, Lahnsteiner, 2000) containing 20 mM Tris, 30 mM glycine, 125 mM NaCl, pH=9.0, and also hatchery water (HW) were used for activation of spermatozoa and fertilization. These two solutions are commonly used in previous studies. Temperature (11.0 ± 0.1 °C) of activating solutions was adjusted to the same of HW. Percentages of progressive motility (%) and durations of progressive motility (s) were determined under a phase-contrast microscope at $200\times$ magnification immediately while fertilization rates were calculated using a stereomicroscope at $20\times$ magnification eighth days after the insemination. The sperm motility percentages were estimated as the percentage of cells that exhibited progressive forward movement (Horváth, et al., 2003). The durations of motility were determined as the times until forward movement stopped and circular movement began. The percentages of sperm motility were assessed using an arbitrary scale with 10% interval increments in which non-motility was recorded as 0% (modified from Borges, et al., 2005). The evaluation of motility characteristics was performed subjectively by 3 different researchers examining 5 different microscopic fields. Three aliquots of each sample were determined by each

researcher, and the average motility characteristics were then calculated and sperm samples were diluted 1:400 with A1, A2 and HW during motility measurements. Fertilization was performed at approximately 300.000:1 sperm-to-egg ratios. To adjust sperm volume, an immobilizing solution (110 mM NaCl, 28.18 mM KCl, 1.22 mM $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.77 mM $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 10.05 mM Bicine, and 9.99 mM HEPES, pH=8.2) was used (Robles, et al., 2003). A1, A2 and HW were added to the eggs in plastic cups (350 ± 20 eggs). Next, the sperm sample was immediately added and the gametes were gently mixed for 60 s. After 5 min to allow fertilization to occur, the eggs were rinsed with HW and incubated for 15 min to water-harden the eggs, and then transferred to hatchery trays supplied with constant water flowing continuously through the system. Eight days after fertilization, at least 100 eggs were taken from each replicate placed in petri dishes containing a clearing solution of acetic acid:methanol:distilled water (1:1:1 v/v/v). After a 10 min, fertilized eggs were distinguished from unfertilized eggs by the presence of a clearly backbone. The fertilization success of a sample obtained from an activating solution was estimated by calculating the percentage of fertilized eggs in relevant replicates (Geffen and Evans, 2000). Fertilization tests were carried out in triplicate for each for each activating solutions.

Statistical analysis

All values are represented mean±standard deviation. Statistical differences in the durations of sperm progressive and fertilization rates were tested using one-way ANOVA, following Tukey's HSD post-hoc, at the 0.05 probability level. Statistics were performed using SPSS software version 20.0

Results and Discussion

Many teleost fish spermatozoa vary from the spermatozoa of mammalian species in terms of some specific properties such as they are immotile in testis, their motility is activated by releasing into the water, and their progressive motility occurs within minutes (Kime, et al., 2001). The improvement and maintenance of this short duration of motility are critical for determining fertilization success. In general, the percentages of progressive motility (%) and the durations of progressive motility (s) which determined also in this study are the two clearest parameters for assessing sperm quality.

The average sperm density of the pooled samples was calculated as $10.46 \pm 0.50 \times 10^9$ spermatozoa/ml. The effects of different activating solutions (HW, A1 and A2) on the percentage and duration of progressive sperm motility in rainbow trout are shown in Fig. 1. No significant differences ($P > 0.05$) were found in the average motility percentages of samples activated by

HW, A1 and A2 ($P > 0.05$) even though a slight increase was noted in motility percentages of A1 and A2 was noted. In contrast, the average motility durations have shown significant differences ($P < 0.05$). The highest motility durations were achieved using A1 and A2 (30.0 ± 1.4 s and 30.5 ± 0.7 s, respectively). Those values were significantly higher than the average motility duration obtained by HW (22.5 ± 0.7 s). Cejko, et al., (2013) compared sperm motility parameters determined by 4 different activating solutions with those values achieved by distilled water in *Cyprinus carpio* sperm. They found some differences among motility parameters, particularly the percentage of motile sperm (82.7%) and percentage of progressively motile sperm (approximately 40%). The highest values were found sperm samples activated by a activating solution containing 100 mM NaCl and 10mM Tris, (pH=9) while other activating solutions were lower pH values and had different contents while they did not report any fertilization rates. In our study, similar to motility durations, significant difference ($P < 0.05$) in the fertilization rates was found between HW and the others (Fig. 2). The lowest average fertilization rate (64.6 ± 1.4 %) was obtained using HW, while those values were 89.4 ± 5.1 and 91.3 ± 0.6 % using A1 and A2 respectively.

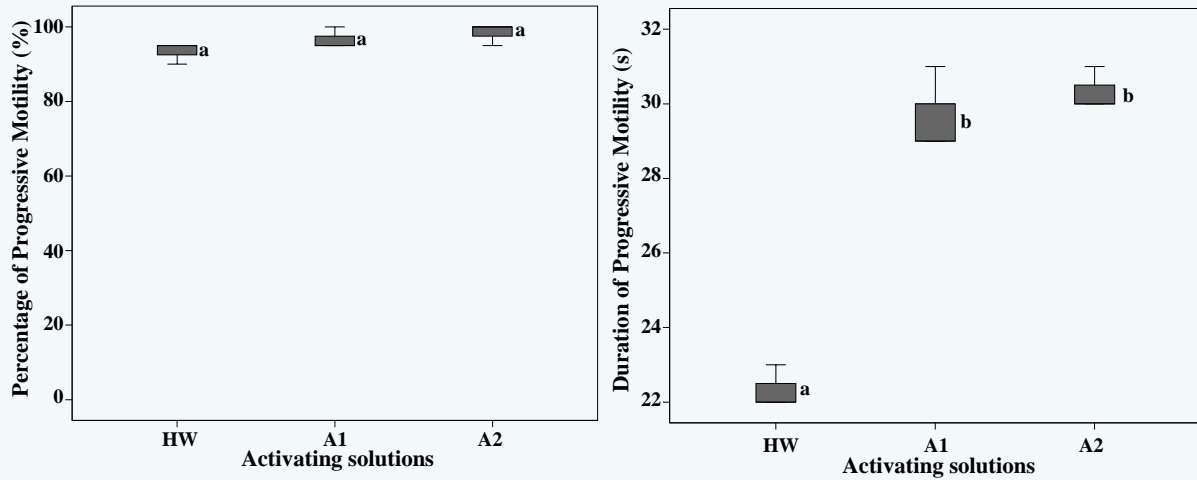


Figure 1. The percentage (A) and duration (B) of progressive motility levels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as a function of different activating solutions. In the box plots, different superscripts indicate the differences ($P < 0.05$).

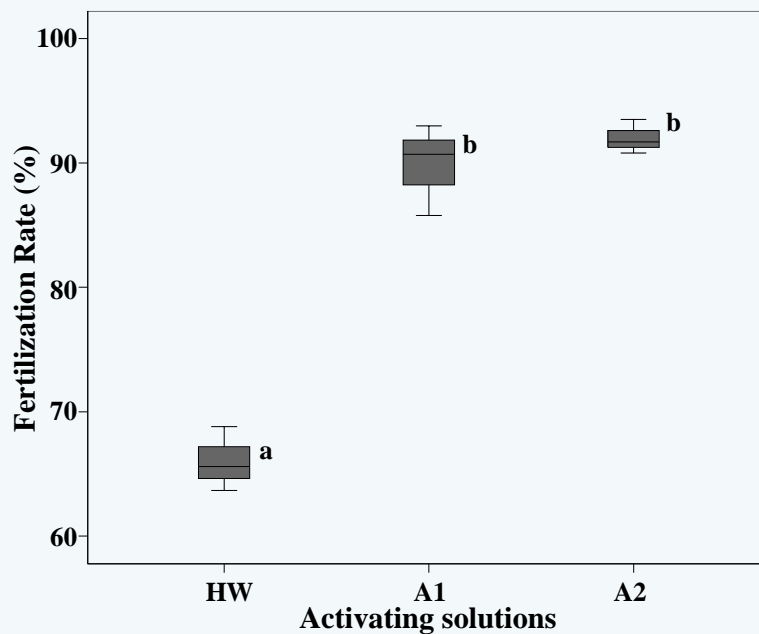


Figure 2. Fertilization rates obtained from sperm samples of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) activated with different activating solutions. In the box plots, different superscripts indicate the differences ($P < 0.05$).

Sperm activating solutions are beneficial not just for aquaculturist, also are useful also for researchers. Obviously, motility parameters are more precisely

determined using with them. The activating solutions used for spermatozoa of fish species living in marine and fresh water have different contents. Even though fish are

living the same environment, the activation solutions could be species depending. Compositions of activating solutions using commonly in activation of spermatozoa of some freshwater fish species were listed in Table 1. As seen in Table 1, osmolality of activating solutions used for freshwater fish are provided by mainly NaCl. Having regard to these studies listed Table 1, the advantages found in our study seem to arise from two eventual reasons; pH and osmolality. Optimum pH and osmolality values are key elements to trigger and improve motility (Cosson, 2004; Alavi and Cosson, 2005; Alavi and Cosson, 2006). Activating solutions has broader buffering capacity than water. Thus, these solutions are very likely to prevent pH alterations emerge from during spermatozoa activation.

Conclusions

Choosing a proper activating solution can play an extremely useful role in artificial insemination of fish species. Fertilization rates could be increased when the proper activating solutions are used instead of the hatchery water. Besides, preparation of these solutions is usually simple, rapid, and cheap as opposed to common belief. In this study, the effects of two lab-made activating solutions on sperm motility characteristics and fertilization rates were compare with those values obtained by the hatchery water during the artificial insemination of rainbow trout. As with all activating

solutions designed for use with relevant fish species, they are in need of much more improvement and study. Moreover, a proper activating solution should be designated for less-studied or new species

Acknowledgement

The study was presented in 1st International Symposium on Limnology and Freshwater Fisheries, 4-6 October 2017 Eğirdir, Isparta, Turkey by poster presentation.

References

- Abascal, F.J., Cosson, J., Fauvel, C. (2007).** Characterization of sperm motility in sea bass: the effect of heavy metals and physicochemical variables on sperm motility. *Journal of Fish Biology*, 70(2), 509–522.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J., (2005).** Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH: a review. *Cell Biology International*, 29: 101–110.
- Alavi, S.M.H., Cosson, J. (2006).** Sperm motility in fishes. (II) Effects of ions and osmolality: A review. *Cell Biology International*, 30: 1–14.
- Billard, R. (1977).** A new technique of artificial insemination for salmonids using a sperm diluent. *Fisheries*, 1: 24–25.
- Billard, R. (1986).** Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod Nutr Develop*, 26(4): 877–920.
- Billard, R. (1988).** Artificial insemination and gamete management in fish. *Marine Behaviour and Physiology*, 14(1): 3–21.
- Billard, R. (1992).** Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes. *Aquaculture*, 100: 263–298.
- Billard, R., Cosson, J., Percec, G., Linhart, O. (1995).** Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 129: 95–112.
- Billard, R., Jensen, J.O.T. (1996).** Gamete removal, fertilization and incubation. In: Pennell W, Barton BA(ed's), *Principles of Salmonid Culture*, Elsevier Science, Amsterdam, the Netherlands, 291-363.1039 p.
- Borges, A., Siqueira, S.R., Jurinitz, D.F., Zanini, R., Amaral, F., Grillo, M.L., Oberst, E.R., Wassermann, G.F. (2005).** Biochemical composition of seminal plasma and annual variations in semen characteristics of jun-dia *Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). *Fish Physiol Biochem*, 31: 45–53.

- Cejko, B.I., Glogowski, J., Kowalski, R.K., Kucharczyk, D., Targońska, K. (2008).** Description of pikeperch, *Sander lucioperca* (L.), semen obtained from males held under different rearing conditions. *Archives of Polish Fisheries*, 16(1): 93–100.
- Cejko, B.I., Sarosiek, B., Kowalski, R.K. (2013).** Application of Computer-assisted Sperm Analysis in Selecting the Suitable Solution for Common Carp, *Cyprinus carpio* L., Sperm Motility. *Journal of the World Aquaculture Society*, 44(3): 466–472.
- Cosson, J. (2004).** The ionic and osmotic factors controlling motility of fish spermatozoa. *Aquaculture International*, 12: 69–85.
- Cosson, M.P., Cosson, J. Andre, F., Billard, R., (1995).** cAMP/ATP relationship in the activation of trout sperm motility: their interaction in membrane-derived models and in live spermatozoa. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 31:159–176.
- Gallegoa, V., Peñaranda, D.S., Marco-Jiménez, F., Mazzeo, I., Pérez, L., Asturianoa, J.F. (2012).** Comparison of two techniques for the morphometry study on gilthead seabream (*Sparus aurata*) spermatozoa and evaluation of changes induced by cryopreservation. *Theriogenology*, 77: 1078–1087.
- Geffen, A.J., Evans, J.P. (2000).** Sperm traits and fertilization success of male and sex-reversed female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 182. 61–72.
- Gwo, J.C. (1994).** Cryopreservation of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) spermatozoa (Teleost, Perciformes, Sparidae). *Theriogenology*, 41: 989-1004.
- Horváth, A., Miskolczi, E., Urbanyi, B., (2003).** Cryopreservation of common carp sperm. *Aquat Living Resour*, 16: 457–460.
- Ingermann, R.L., Schultz, C.L.F., Kanuga, M.K., Wilson-Leedy, J.G. (2011).** Metabolism of motile zebrafish sperm. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 158: 461-467.
- Jarmolowicz, S., Demska-Zakes, K., Kowalski, R., Cejko, B.I., Glogowski, J., Zakes, Z. (2010).** Impact of dibutyl phthalate and benzyl butyl phthalate on motility parameters of sperm from the European pikeperch *Sander lucioperca* (L.). *Arch Pol Fish*, 18: 149–156.
- Kime, D.E., Van Look, K.J.W., McAllister, B.G., Huyskens, G., Rurangwab, E., Ollevier, F. (2001).** Computer-assisted sperm analysis CASA/ as a tool for monitoring sperm quality in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 130: 425–433.
- Kucharczyk, D.K., Targonska, P., Gomulka, H.P., Kwiatkowski, M., Perkowski, J. (2008).** Reproductive parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L.) spawners during natural season and out-of-season spawning. *Reproductive Biology*, 8(3): 285–289.
- Lahnsteiner, F. (2000).** Semen cryopreservation in the Salmonidae and in the Northern pike. *Aqua Res*, 31, 245–258.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. (1999).** Sperm Metabolism of the Teleost Fishes *Chalcalburnus chalcoides* and *Oncorhynchus mykiss* and Its Relation to Motility and Viability. *Journal of Experimental Zoology*, 284: 454–465.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T., Patzner, R.A. (1996).** Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus* (Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiology and Biochemistry*, 15:167–179.
- Lahnsteiner, F., Patzner, R.A. (1998).** Sperm motility of the marine teleosts *Boops boops*, *Diplodus sargus*, *Mullus barbatus*, and *Trachurus mediterraneus*. *Journal of Fish Biology*, 52: 726–742.
- Li, P., Hulak, M., Li, ZH., Sulc, M., Psenicka, M., Rodina, M., Gela, D., Linhart, O. (2013).** Cryopreservation of common carp (*Cyprinus carpio* L.) sperm induces protein phosphorylation in tyrosine and threonine residues. *Theriogenology*, 80(2): 84–89.
- Linhart, O., Rodina, M., Flajshans, M., Gela, D., Kocour, M. (2005).** Cryopreservation of European catfish *Silurus glanis* sperm: Sperm motility, viability, and hatching success of embryos. *Cryobiology*, 51: 250–261.
- Perchec, G., Cosson, M.P., Cosson, J., Jeulin, C., Billard, R. (1996).** Morphological and kinetic changes of carp (*Cyprinus carpio*) spermatozoa after initiation of motility in distilled water. *Cell Motility and the Cytoskeleton*, 35: 113–120.
- Robles, V., Cabrita, E., Cunado, S., Herraiez, M.P. (2003).** Sperm cryopreservation of sex-reversed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): parameters that affect its ability for freezing. *Aquaculture*, 224 203–212
- Scott, A.P., Bayne, S.M. (1980).** A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. *J Fish Biol*, 17: 707–739.
- Ubillá, A., Valdebenito, I. (2011).** Use of antioxidants on rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792) sperm diluent: effects on motility and fertilizing capability. *Lat Am J Aquat Res*, 39(2): 338–343.
- Vuthiphandchai, V., Thadsri, I., Nimrat, S. (2009).** Chilled storage of walking catfish (*Clarias macrocephalus*) semen. *Aquaculture*, 296: 58–64.

Table 2. Compositions and pH levels of activating solutions using commonly in activation of spermatozoa of potential aquaculture freshwater fish species.

Species	Compositions of Activating Solutions	References
<i>Freshwater fish</i>		
<i>Alburnus alburnus</i>	100mM NaCl, 10mM Tris pH 9.0	Lahnsteiner, et al., 1996
<i>Chalcalburnus chalcoides</i>	50 mM NaCl, 20 mM Tris pH 9.0	Lahnsteiner, et al., 1999
<i>Clarias macrocephalus</i>	~70 mM NaCl	Vuthiphandchai, et al., 2009
<i>Cyprinus carpio</i>	68 mM NaCl, 50 mM urea pH 7.7 86 mM NaCl 5mM KCl, 45mM NaCl, 30mM Tris pH 8.0 45 mM NaCl, 5 mM KCl, 30 mM Tris- HCl pH 8.2	Billard, et al., 1995 Kucharczyk, et al., 2008 Perchec, et al., 1996 Li, 2013
<i>Danio rerio</i>	40 mM NaCl, 20 mM HEPES pH 8.5	Ingermann, et al., 2011
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	125 mM NaCl, 0.1 CaCl ₂ , 30 Tris pH 8.5 125 mM NaCl, 1 mM CaCl ₂ , 20 mM Tris, 30 mM glycine pH 9.0 140 mM NaCl pH 9.0	Cosson, et al., 1995 Billard, 1977 Ubilla and Valdebenito, 2011
<i>Sander lucioperca</i>	120 mM NaCl 119 mM NaHCO ₃ , 0.5% BSA	Jarmolowicz, et al., 2010 Cejko, et al., 2008
<i>Silurus glanis</i>	17 mM NaCl, 5 mM Tris-HCl pH 8.0	Linhart, et al., 2005

*BSA; bovine serum albumin

Klinoptilolit kuzularda giardiazis sağaltımına yönelik alternatif ve doğal bir çözüm olabilir mi?

May clinoptilolite be an alternative and natural solution for the treatment of giardiasis in lambs?

Özet

Amaç: Bu saha çalışması giardiasisli kuzularda oral yolla uygulanan klinoptilolit etkinliğinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi.

Yöntemler: Aydın ili sınırlarında yer alan özel bir işletmede ishal mevcut ve *G. duodenalis* ile doğal enfekte her iki cinsiyetten ve 23-56 günlük yaştaki 14 kuzu değerlendirildi. Tanı amacıyla ELISA prensibi ile çalışan hızlı tanısai test kitleri yapıldı. Giardiazisli kuzular her grupta n=7 olarak rastgele I. gruba [1 g/kg dozda 10 gün oral yolla klinoptilolit uygulanırken] ya da II. gruba [ilaç uygulaması yapılmaksızın kontrol grubu] ayrıldı. Klinoptilolit sağaltım etkinliği 0. ve 10. günlerde rektal yolla elde edilen dışkı örneklerinin mikroskopik muayenesiyle değerlendirildi.

Bulgular: Kontrol ve sağaltım grupları arasında karşılaştırmalarda 10. günde klinoptilolit ile sağaltılan grupta kist atılımında % 97,2'lik azalma belirdi (p 0<0,05).

Sonuç: Giardiazisli kuzularda oral yolla 10 gün uygulanan klinoptilolit kist atılımını etkin şekilde azalttığı ve antiparaziter etkinlik sağladığı görüldü.

Anahtar kelimeler: Kuzu, giardiazis, klinoptilolit

Abstract

Objective The aim of this field study was to detect the therapeutic efficacy of oral clinoptilolite in lambs with giardiasis.

Methods: A total of fourteen lambs naturally infected with *G. duodenalis* at the age of 23 to 56 days, of both sexes were enrolled into the study from a lamb farm located in Aydın province. Diagnosis was based on rapid diagnostic test kits with ELISA principle. Lambs with giardiasis were randomly assigned into two groups (n=7), group I [1 g/kg clinoptilolite for 10 days or group II [were left as control without receiving any drug]. Therapeutic efficacy of clinoptilolite was determined by microscopical examination of faecal samples collected rectally on days 0 and 10.

Results: Comparison of control and treatment intragroups revealed 97,2% reduction (p 0<0,05) for cyst excretion in clinoptilolite treated group.

Conclusion: In conclusion, it may be safely suggested that oral clinoptilolite administration for 10 days effectively reduced cyst excretion with antiparasitic efficacy among lambs with giardiasis.

Key Words: Lamb, giardiasis, clinoptilolite

Araştırma Makalesi

Adnan AYAN¹
Deniz Aliç URAL²
Serdar PAŞA³
Songül ERDOĞAN³
Hasan ERDOĞAN³

¹Van Yüzüncü Yıl
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Genetik Anabilim
Dalı, Van

²Adnan Menderes
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Hayvan Çiftliği,
Aydın

³Adnan Menderes
Üniversitesi Veteriner
Fakültesi İç Hastalıkları
Anabilim Dalı, Aydın,

İletişim (Correspondence)

Adnan AYAN
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Genetik
Anabilim Dalı, 65080, Zeve
Kampüsü, Tuşba/Van
adnanayan@yyu.edu.tr

Makale Bilgisi
Geliş: 30-03-2018
Kabul: 29-08-2018

Copyright © 2018 VetBio

Giriş

Giardia duodenalis (*Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis*) insan ve hayvanlardaki en yaygın görülen protozoonlardan biridir. İnsan ve hayvanlardaki Giardiazis; diyare, karın ağrısı, kusma, bulantı ve kilo kaybı gibi geniş bir klinik bulgu yelpazesi vardır. Parazit, asemptomatik vakalarda çocukların gelişim geriliğine neden olabilir (1). Ayrıca pet ve çiftlik hayvanlarında da klinik ve ekonomik önemi vardır (2-4). *G. duodenalis* ile enfekte ruminantlar çoğunlukla asemptomatiktir, ancak büyüme oranında azalma, yem dönüştürme etkinliğinde bozulma, kalıcı diyare gibi subklinik belirtiler ara sıra gözlemlenir (5). Koyun sürüleri, su kaynaklarının kontaminasyonu için potansiyel tehdit olarak düşünülebilir. (6). Giardiazis önemli bir zoonotik hastalık olarak düşünülür. Fakat *G. duodenalis*'in zoonotik potansiyelini belirlemek için moleküler karakterizasyonu gereklidir. (7). Epidemiyolojik ve moleküler araştırmalar en az sekiz asemblaj (A-H)'ın varlığını bildirmiştir (8). Asemblaj A ve B hem insanları hem küçük ruminantları etkileyen zoonotik genotipler olarak düşünülür (3, 9-11). Koyun gibi küçük ruminantlar insan enfeksiyonu için rezervuar olarak düşünülebilir (6, 12). Fakat asemblaj E, çift tırnaklı çiftlik hayvanlarına özgü olarak düşünülür ayrıca kuzu ve oğlaklarda en yaygın asemblaj olduğu bulunmuştur (9, 13). Giardiazisli hayvanların tamamı insanlar ya da diğer hayvanlar için muhtemel enfeksiyon kaynağı olduğundan tedavi edilebilir (14).

Bu saha çalışması giardiasisli kuzularda oral yolla uygulanan klinoptilolitin etkinliğinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirildi.

Materyal ve Metot

Aydın ili sınırları içerisinde vatandaşı elinde mevcut özel bir işletmede ishal bulunan, her iki cinsiyetten 23-56 günlük yaştaki 14 kuzu değerlendirildi. Çalışma protokolü Adnan Menderes Üniversitesi HADYEK

birimi (no: 2013/076, 19.09.2013) tarafından onaylanmıştır. İshalle ilişkisi bulunan bazı hastalıkların ekarte edilmesine yönelik hızlı tanısal test kitleri (Anigen Rapid Bovid-5 Ag Test Kit, Bionote Lab.) ile *E. coli* K99 sp., *G. duodenalis*, Rotavirus Coronavirus ve *Cryptosporidium* sp. ve antijenleri tarandı. Kuzular bilgi onam formu ile işletme sahibinin bilgilendirilmesi sonucu gönüllülük esasıyla dahil edildi.

Gruplandırma

Giardiazisli kuzular her grupta n=7 olarak rastgele I. gruba [1 g/kg dozda 10 gün oral yolla kl (Natmin-9000) uygulanırken] ya da II. gruba [ilaç uygulaması yapılmaksızın kontrol grubu] ayrıldı. Klinoptilolit etken maddesini içeren 40 mikronize toz halindeki preparat 1'e 10 oranında sulandırılarak orogastrik sonda aracılığıyla verildi. Uygulama esnasında çalışmada yer alan araştırmacıların tamamı ilgili analiz günlerinde işletmeye bizzat iştirak etmiş, aktif rol dağılımı teşkil etmişlerdir.

Dışkı analizleri

Çalışmanın ilk aşamasında ve gruplara rastgele dağılım öncesi dışkıda *G. duodenalis*'e ait kist ve trofozoitlerinin saptanması için rektumdan direkt alınan dışkı numuneleri iki ince yayma froti hazırlanarak Giemsa boyama ile incelendi (15). Kuzularda kl sağaltımının etkinliği 0. ve 10. günlerde elde edilen dışkı numunelerinin mikroskopik muayenesiyle tespit edildi. Kuzulardan elde edilen dışkı numuneleri potasyum dikromat çözeltisi aracılığı ile mikrosokopik muayene aşamasına kadar +4°C' de tutuldu (15). Müteakip 1.18 dansite çinko sülfat flotasyon ile muamele edilerek ×40 veya ×100 büyütmede gram dışkı kist sayısına bakıldı. Kist atılımındaki değişikliklerin yüzdesi ilgili ve önceden gerçekleştirilmiş yayınlar eşliğinde (16, 17) geometrik ortalamanın Henderson Tilton formülüne (18) işlenmesiyle hesaplandı.

İstatistiksel analizler

Gram dışkı başına kist sayıları göz önünde bulundurularak, analizi gerçekleştirilen değerlerin geometrik ortalaması tanımlayıcı istatistiksel analizler ile yorumlandı. Klinoptilolit sağaltım ve kontrol gruplarının 0. ve 10. günlerdeki kist sayıları arası farklılıkların belirlenmesinde Friedman testi, her bir gün için gruplar arası farklılıkların değerlendirilmesinde ise Mann Whitney U testi kullanıldı. İstatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS 15.0 paket programından yararlanıldı.

Bulgular

Analizler başlamadan hemen öncesinde her 2 grupta ishal mevcuttu. Hızlı test kitleri ile dışkı analizlerinde giardiazis dışında farklı bir patojene rastlanmadı. Sağaltım grubundaki kuzuların 2. günden itibaren dışkı kıvamlarının normal olduğu, kontrol grubundaki hayvanlarda ise dışkı karakterinde yumuşamanın 7.-8. günlere kadar devam ettiği gözlemlendi. Sağaltım grubundaki hayvanlarda kl uygulamasına ilişkin herhangi bir yan etki (özellikle konstipasyon ya da sıvı elektrolit kaybı) görülmedi. Hem klinik ve hem de parazitolojik kür (dışkıya ait tekrarlayan mikroskopik muayene) kl uygulanan hayvanlarda belirgindi. Kontrol grubundaki hayvanlar çalışma bittikten sonra etik kurallar çerçevesinde standart anti-giardial sağaltıma (seknidazol 30 mg/kg oral tek dozda) tabi tutuldu. Gerek kontrol gerekse sağaltım gruplarındaki kuzularda 0. ve 10. günlerde belirlenen kist atılımlarının geometrik ortalaması ve sağaltım sonrasında belirlenen kist atılımındaki azalma yüzdesi Tablo 1'de sunuldu. Kontrol ve sağaltım gruplarında 0. günde grup içi ya da gruplar arası karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlı farklılık belirlenmedi, 10. günde kl ile sağaltılan grupta kist atılımında % 97,2'lik azalma belirgindi (p <0,05).

Tartışma

Önemli paraziter hastalıklar arasında belki de en önde gelen giardiazis ülkemizde farklı hayvan türlerinde (28, 29) ya da ruminantlarda yaygınlığı (17, 20-25) verim kayıpları, zoonotik özelliği ve aralıklı kist saçılımı ivedilikle sağaltılmasının uygun olacağı bildirilmiştir (16, 21). Geviş getiren hayvanlarda giardiazis sağaltımında fenbendazol (16, 26), albendazol (27), klorokin (21) gibi farklı sağaltım seçenekleri olsa da mevcut ilaçların giardiazis sağaltımına yönelik ruhsat problemi ya da FDA onayı bulunmaması gibi tüm nedenlerden ötürü yeni sağaltım seçeneklerine ihtiyaç duyulabilmektedir (15). Klinoptilolit bu noktada doğal bir sağaltım seçeneği olabilir mi hipotezinden yola çıkarak bu çalışmayı gerçekleştirmeyi düşündük.

Klinoptilolit doğal yolla oluşan giardiazisli 16 oğlakta karşı sağaltım etkinliğinin belirlendiği yakın zamandaki bir çalışmada I. gruba 1 g/kg dozda 10 gün oral yolla kl uygulanırken, II. gruptaki hayvanlar plasebo kontrol grubu olarak bırakılmıştır. Uygulama yapılan grupta giardiazise karşı 10. günde kist atılımında %95 etkinlik ile azalma sağlanmasına karşın, kontrol grubunda 0. gün ile (165832) 10. günlerde (162096) kist atılımının geometrik ortalamalarındaki düşüşlerin belirgin olmadığı saptanmıştır (15). Yine bir başka araştırmada ishalleri ve *G. duodenalis* ile doğal enfekte buzağılarda [I. grupta 1 g/kg dozda 10 gün kl uygulanırken, II. grupta herhangi ilaç uygulaması yapılmamıştır] kl 7. günde % 74, 14. günde % 84 etkinlik sağlamıştır (22). Her 2 çalışmada da gerek oğlak (15), gerekse buzağılarda (22) giardiazise karşı oral yolla 10 gün uygulanan klinoptilolit kist atılımında azalmaya sebep olabileceği belirtilmiştir.

Sonuç

Giardiazisli kuzularda oral yolla 10 gün uygulanan klinoptilolit kist atılımını etkin şekilde azalttığı ve antiparaziter etkinlik sağladığı görüldü

Tablo 1: Kontrol ve sağaltım gruplarındaki kuzularda 0. ve 10. günlerde belirlenen kist atılımlarının geometrik ortalaması ve sağaltım sonrasında belirlenen kist atılımındaki azalma yüzdesi.

Kontrol	0. gün	10. gün	Sağaltım	0. gün	10. gün
Örnek 1	244840	25258	Örnek 1	170480	6
Örnek 2	160230	15256	Örnek 2	160083	5
Örnek 3	220060	23060	Örnek 3	224048	10
Örnek 4	192056	22042	Örnek 4	216075	8
Örnek 5	256032	26341	Örnek 5	182540	6
Örnek 6	180802	18420	Örnek 6	201040	8
Örnek 7	272407	29048	Örnek 7	188390	6
Ortalama	218061	22775		191808	7
Kist					
saçılımındaki					99,97%
azalma (%)					

Kaynaklar

Prado MS, Cairncross S, Strina A, Barreto ML, Oliveira-Assis AM, Rego S. (2005) Asymptomatic giardiasis and growth in young children; a longitudinal study in Salvador, Brazil. *Parasitology*; 131: 51-56.

Olson ME, O'Handley RM, Ralston BJ, McAllister TA, Thompson RC. (2004). Update on *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in cattle. *Trends Parasitol*; 20: 185-191.

Aloisio F, Filippini G, Antenucci P, Lepri E, Pezzotti G, Cacciò SM. (2006). Severe weight loss in lambs infected with *Giardia duodenalis* assemblage B. *Vet Parasitol*; 142: 154-158.

Thompson RC, Palmer CS, O'Handley R. (2008). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Vet J*; 177: 18-25.

Lalle M, Pozio E, Capelli G, Bruschi F, Crotti D, Cacciò SM. (2005). Genetic heterogeneity at the β -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *Int J Parasitol*; 35: 207-213.

Robertson LJ. (2009). *Giardia* and *Cryptosporidium* infections in sheep and goats: A review of the potential for transmission to humans via environmental contamination. *Epidemiol Infect*; 137: 913-921.

Lebbad M, Mattsson JG, Christensson B, Ljungström B, Backhans A, Andersson JO, et al. (2010). From mouse to moose: multilocus genotyping of *Giardia* isolates from various animal species. *Vet Parasitol*; 168: 231-239.

Caccio SM. (2015). Giardiasis: a zoonotic infection or not? In: Sing A, editor. *Zoonoses-infections affecting humans and animals*. New-York (NY): Springer;. p. 821-848.

- Geurden T, Thomas P, Casaert S, Vercruyse J, Claerebout E. (2008).** Prevalence and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in lambs and goat kids in Belgium. *Vet Parasitol*; 155: 142-145.
- Gianguaspero A, Paoletti B, Iorio R, Traversa D. (2005).** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* from sheep in central Italy. *J Parasitol Res*; 96: 32-37.
- Karanis P, Ey PL. (1998).** Characterization of axenic isolates of *Giardia intestinalis* established from humans and animals in Germany. *J Parasitol Res*; 84: 442-449.
- Geurden T, Vercruyse J, Claerebout E. (2009).** Is *Giardia* a significant pathogen in production animals?. *Exp Parasitol*; 124: 98-106.
- Ey PL, Mansouri M, Kulda J, Nohynkova E, Monis PT, Andrews RH, et al. (1997).** Genetic analysis of *Giardia* from hoofed farm animals reveals artiodactyls-specific and potentially zoonotic genotypes. *J Eukaryot Microbiol*; 44: 625-635.
- Geurden T, Pohleb H, Sarrea C, Dreesena L, Vercruysee J, Claerebout E. (2011).** The efficacy of a treatment with fenbendazole against an experimental *Giardia duodenalis* infection in lambs. *Small Rum Res*; 96(2-3): 211-215.
- Ahç Ural D, Erdoğan H, Toplu S, Ayan A. (2017).** Oğlaklarda Giardiazis Kontrolüne Yönelik Oral Klinoptilolit Uygulaması. *Kocatepe Vet J*; 10(3): 158-163
- Geurden T, Vercruyse J, Claerebout E. (2010).** Is *Giardia* a significant pathogen in production animals? *Exp Parasitol*; 124(1): 98-106
- Ural K, Aysul N, Voyvoda H, Ulutas B, Aldemir OS, Eren H. (2014).** Single dose of secnidazole treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in Sakiz lambs. *Rev MVZ Cordoba*; 19(1): 4023-32.
- Henderson DF, Tilton EW. Tests with acaricides against the brown wheat mite. *J Econ Entomol*; 48: 157-161.
- Cacció SM, de Giacomo M, Pozio E. (1955).** Sequence analysis of the β giardin gene and development of a PCR-RFLP assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *Int J Parasitol* 2002; 32: 1023-1030.
- Ayan A, Ural K, Aysul N, Gültekin M, Erdoğan H, Balıkçı C, et al. (2016).** Natural Cyst Shedding in Calves Infected with *Giardia duodenalis*. *J AdvVetBio Sci Tech*. 1(1): 14-19.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balıkci C, Akyildiz G. (2016).** The efficacy of chloroquine treatment of *Giardia duodenalis* infection in calves. *Vlaams Diergeneeskd Tijdschr*; 85(6): 335-41.
- Ahç Ural D, Aysul N, Gultekin M. (2016).** The Efficacy of Oral Administration of Clinoptilolite Against Naturally Occuring Giardiasis in Calves. *Kocatepe Vet J*; 9(4): 288-293.
- Toplu S, Ural K, Aysul N, Ayan A, Gültekin M, Balıkçı C. (2016).** Hypomagnesaemia In Naturally Infected Calves with *Giardia* Spp. *Kocatepe Vet J*; 9(4): 386-390.
- Gultekin M, Ural K, Aysul N, Ayan A, Balıkci C, Toplu S, Akyildiz G. (2017).** Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in calves in Turkey. *Acta Sci Vet*; 45: 01-6.
- Ural K, Gultekin M, Pasa S, Aysul N, Ayan A. (2017).** Chloroquine treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in dogs. *Med Weter*; 73(5): 280-283.
- O’Handley RM, Cockwill C, Jelinski M, McAllister TA, Olson ME. (2000).** Effects of repeat fenbendazole treatment in dairy calves with giardiasis on cyst excretion, clinical signs and production. *Vet Parasitol*; 89(3): 209-218.
- Ragbetli C, Tanritanir P, Yilmaz H, Yoruk I, Ozdemir H. (2014).** Effect on biochemical parameters in naturally infected calves with giardiasis after treatment with albendazole in Van Province, Turkey. *Indian J Anim Sci.*; 48(1): 38-44.

Marmara ve Karadeniz Bölgesi istavrit karaciğerinde GPx, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve vitamin A değerleri*

GPx, SOD, CAT enzyme activities and Vitamin A values in the Marmara and Black Sea Region Scad's Liver

Özet

Deniz kirliliğine sebep olan kirleticilerin miktarı ve sayısı her geçen gün daha da artmaktadır. Akuatik türlerde biyobelirteç olarak antioksidan savunma sistemi elemanlarının kullanımı kirliliğin erken teşhisi amacıyla tercih edilmektedir. Bu çalışmada Karadeniz ve Marmara denizi yüzey balıklarından istavrit (*Trachurus trachurus*) karaciğer dokusunda GPx, SOD ve CAT enzim aktiviteleri ve vitamin A düzeyi araştırılmıştır. Örnekler Mart (1.dönem) ve Kasım (2.dönem) aylarında toplanmıştır.

Marmara Denizi istavrit balıkları dönemler arasındaki karşılaştırmasında 2. Dönem GPx aktivitesi 1. Döneme göre artmış ($p \leq 0.01$), 2. Dönem vitamin A düzeyi 1. Döneme göre düşük ($p \leq 0,05$) bulunmuştur. Marmara ile Karadeniz'in karşılaştırılmasında GPx aktivitesi Karadeniz istavritlerinde Marmara'ya göre yüksek ($p \leq 0,05$) düzeyde tespit edilmiştir. Her iki dönemde de CAT aktivitesi ve vitamin A düzeyi Karadeniz örneklerinde Marmara'ya göre düşük (CAT:1.Dönem $p \leq 0,01$, 2. Dönem $p \leq 0,05$; Vitamin A:1.Dönem $p \leq 0,05$, 2. Dönem $p \leq 0,01$) tespit edilmiştir.

Deniz balıklarında kirliliğin biyomönütörü olan antioksidan sistem parametrelerinin; yüzey balıklarının karnivor ve herbivor türleri arasında, yüzey ve dip balık türleri arasında, göçmen balıklar ile göçmen olmayan deniz balıkları hem kendi içlerinde hem de aralarında çalışılması, Deniz balıkları antioksidan sistemi hakkında daha detaylı bilgi edinilmesine ve daha sağlıklı su ürünü tüketilmesine olanak sağlayacaktır. Bu çalışmada, deniz kirliliği ile yüzey balıklarının antioksidan metabolizması ilişkisi incelenmiştir. Elde edilen veriler, bu konuda yapılacak çalışmalara kaynak oluşturabilir.

Anahtar kelimeler: İstavrit, Karaciğer, GPx, SOD, CAT, Vitamin A, Marmara Denizi, Karadeniz.

Abstract

The amount and number of pollutants causing marine pollution are increasing day by day. The use of antioxidant defense system components as biomarkers in aquatic species is preferred for early detection of contamination. In this study, the activities of GPx, SOD and CAT enzymes and vitamin A status in the liver of scad (*Trachurus trachurus*) from Black Sea and Marmara Sea pelagic fishes were investigated. Samples were collected March (1st period) and November (2nd period).

Compared to the Marmara Sea scads, the second term GPx activity was increased according to the 1st rotation ($p \leq 0.01$) and the 2nd Term vitamin A level was found to be lower than the 1st rotation ($p \leq 0,05$). In the comparison of Marmara and Black Sea, GPx activity was found higher in Black Sea scad's compared to Marmara ($p \leq 0.05$).

Araştırma Makalesi

Güzin ÇAMKERTEN¹
Hilal KARAGÜL²

¹Veterinerlik Bölümü,
Teknik Bilimler MYO,
Aksaray Üniversitesi,
Aksaray, Türkiye

²Biyokimya Anabilim Dalı,
Veteriner Fakültesi, Ankara
Üniversitesi, Ankara,
Türkiye

* Doktora tezinden özetlenmiştir

İletişim (Correspondence)

Güzin ÇAMKERTEN
Veterinerlik Bölümü, Teknik
Bilimler MYO, Aksaray
Üniversitesi, Aksaray, Türkiye
oguzalperen@hotmail.com

Makale Bilgisi
Geliş: 06-08-2018
Kabul: 30-08-2018

Copyright © 2018 VetBio

CAT activity and vitamin A level in both periods was lower in the Black Sea samples than in Marmara (CAT:1st period $p \leq 0,01$, 2nd period $p \leq 0,05$; vitamin A: 1st period $p \leq 0,05$, 2nd period $p \leq 0,01$).

Antioxidant system parameters, which are biomonitor of pollution in marine fishes, the study of pelagic fish between carnivorous and herbivorous species, between surface and bottom fish species, migratory fishes and nonimmigrant sea fish both within and between them will enable us to obtain more detailed information about the antioxidant system of our marine fishes and to consume healthier seafood. In this study, the relationship between marine pollution and pelagic fish's antioxidant metabolism has been investigated and in terms of the obtained data, it can be a source of work to be done in this respect.

Key Words: Scad, Liver, GPx, SOD, CAT, Vitamin A, Marmara Sea, Black Sea.

Giriş

Denizler yaşamın başlangıç noktası olup vazgeçilmez bir unsurdur. Bu nedenle dünya yüzeyindeki tüm topluluklar suyun bulunduğu bölgeleri yerleşim alanları olarak tercih etmiş ve bu bölgelerde kentleşme, endüstriyel gelişme, ticaret ve turizmin zamanla artması, deniz kirliliğini son yüzyılda insan sağlığını tehdit eder boyuta ulaştırmıştır (Barsiene ve ark. 2006). Kirlenmeyi ve etkilerini belirleme çabalarında su kalitesinin biyolojik açıdan değerlendirilmesinin önemli bir yeri vardır. Fakat kimyasal örnekleme çalışmaları sırasında gözden kaçabilecek bazı kirlenme durumlarını, biyolojik sistemlerdeki değişiklikleri izleyerek belirlemek mümkün olabilmektedir (Atay ve Pulatsü 2000).

Hayvansal protein kaynağı olarak, hem kolay hem de en ucuz sağlanabilen besinlerin başında su ürünleri gelmektedir. Özellikle balık eti, insanlar için besleme değeri ve protein kalitesi bakımından çok önemli bir yere sahiptir. Kontamine olmuş balıklar insan sağlığı için risk oluşturur (Atay ve Pulatsü 2000; Sevcikova ve ark. 2011). Deniz ekosistemlerinde görülen kirleticiler, poliklorlu bifeniller (PCB), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH), dioksinler, alkiltin bileşikler, ağır metaller, pestisitler, nitrojen ve kükürt içeren bileşiklerdir (Ariç ve Şen 1994; Garrigues ve ark. 1993; Akbulut ve ark. 2014).

Oksijenin kısmi redüksiyonu ile oluşan çeşitli reaktif oksijen türevleri (ROT) hücre bileşenleri için toksik etkiye sahiptir (Orbea ve ark. 2000). Çevre kirliliğine neden olan birçok kimyasal madde ve metaboliti balıklarda serbest oksijen radikalleri ve ROT'u arttırarak hücresel yapılara kovalent bağlanır ve DNA, protein, karbonhidrat ve membran lipidleri gibi makro molekülleri okside ederek oksidatif stresi oluşturur (Orbea ve ark. 2000; Rodovanovic ve ark. 2010; Nogueira ve ark. 2011; Karadağ ve ark. 2014; Akbulut ve ark. 2014). Canlılar genelde kirleticiyi metabolize ederek zararı minimize etme girişiminde bulunurlar (Cheung ve ark. 2001). Antioksidan savunma olarak bilinen bu sistem süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) glutatyon transferaz (GST) enzimler ile düşük molekül ağırlıklı yapılar olan glutatyon, vitamin A, E, C, karotinler, ubikinon10 gibi enzimatik olmayan yapıları kapsar ve balıklar da diğer canlılar gibi antioksidan savunma sistemine sahiptir (Yonar 2017; Abhijith ve ark. 2016; Sevcikova ve ark. 2011; Vinodhini ve Narayanan 2009; Orbea ve ark. 2000; Filho 1996).

Çevre kirliliğinin takibi ve tespitinde kullanılan birçok biyokimyasal teknik geliştirilmiştir. Canlı organizmada kirleticilere karşı oluşan sub-lethal biyolojik cevapla ilgili ölçülen tüm parametreler biyobelirteç olarak tanımlanmaktadır (Napierska ve

Podolska 2005). Akuatik canlılarda özellikle de balıklarda biyobelirteçler kirliliğin erken teşhisinde önemlidir (Abhijith ve ark. 2016). Balıklarda su kirliliğinin çevresel bir indikatörü olarak karaciğer dokusu diğer dokulardan daha fazla önerilmektedir (Yılmaz ve ark. 2006).

Kirliliğin belirlenmesinde uygun, tespiti kolay, duyarlı ve ucuz biyobelirteçlerin seçilmesi gerekir. Biyobelirteçlerin tespitinde kullanılan yöntemlerin de aynı şekilde ucuz, duyarlı, spesifik ve kolay uygulanabilir olması önemlidir (Lehtonen ve ark. 2006; Narbonne ve ark. 2005; Zorita ve ark. 2005). Akuatik sistemlerde kimyasal analizlere göre daha düşük maliyet ve kolay uygulanabilirliği dışında eşsiz bilgiler veren enzim testleri biyobelirteç olarak tercih edilmektedir (Carvalho ve ark. 2012; Stoliar ve Lushchak 2012). Kirlleticilere verilen ilk yanıtın antioksidan savunma sistemi tarafından verilmesi ve ekotoksikolojik risk değerlendirmesine uygun ve güvenilir olması nedeniyle antioksidan enzimler biyobelirteç olarak önerilmektedir (Alak ve ark. 2011; Farombi ve ark. 2007). Denizlerdeki kirlenmenin göstergesi olarak biyobelirteçlerin kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Bu amaçla hem vertebrali deniz canlıları hem de vertebrasızlar kullanılmaktadır (Sarkar ve ark. 2006).

Bu çalışmada, ekonomik açıdan yüksek değer taşıyan yüzey balıklarından İstavritlerde (*Trachurus trachurus*) kirlilik biyobelirteçlerinden GPx, SOD, CAT enzim aktiviteleri ve vitamin A düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Araştırmada, *Carancidae* familyasına ait İstavritler (*Trachurus trachurus*) kullanıldı. Örnekler, Marmara Ereğlisi'nin 2.5 mil açığında 41. kuzey enlemi ve 28. doğu boylamları arasında kalan bölgeden, Karadeniz'de Sarıkum'un 1.26 mil açığında 42. kuzey enlem ve 34. doğu boylamları arasındaki bölgeden Gırgır yöntemi

kullanılarak mart ve kasım aylarında iki kez toplandı. Her iki bölgeden; her toplama dönemi her bir numune için ortalama 30-40 balığın karaciğerini içeren havuzlar oluşturularak 15 istavrit karaciğer örneği toplandı. İki dönemdeki toplam örnek sayısı 60'dir.

Yakalanan balıkların iç organları soğuk-buzlu ortamda çıkartıldı ve karaciğerleri fizyolojik tuzlu suyla yıkandı. Yıkama işlemini takiben 10 g'lık karaciğer örnek havuzlarından enzim analizleri için 5 g ve vitamin analizleri için ise, kalan diğer 5 g karaciğer örneği numaralandırılmış ayrı poşetlere konuldu alüminyum folyo ile sarılarak sıvı nitrojen tankında depolandı. Nakil işlemleri sıvı nitrojen tankıyla gerçekleştirildi ve analiz işlemlerine kadar -80 °C soğutucuda muhafaza edildi.

Doku örneklerinin homojenizasyonu Glutatyon Peroksidaz aktivite tayini için Paglia ve Valentine (1967), Süperoksit Dismutaz aktivite tayini için Misra ve Fridovich (1972), Katalaz aktivite tayini için Aebi (1983) yöntemi kullanılarak hazırlandı.

Doku homojenizatlarından elde edilen süpernatantlarda; GPx aktivitesi Paglia ve Valentine (1967), SOD aktivitesi Sun ve ark. (1988), CAT aktivitesi Aebi (1983) tarafından bildirilen yöntemlerle ölçüldü.

Karaciğer homojenizatlarında vitamin A ve beta-karotin tayini, Aseton-Hekzan (1:1) karışımında ekstraksiyon (Grys, 1980) sonucu Suzuki ve Katoh (1990)'un bildirdikleri UV/VIS spektrofotometrik yöntem ile yapıldı.

Gruplar arası farklılığın öneminin istatistik hesaplanmasında Eş yapma ve t-testi (Esin ve ark. 1997) kullanılmıştır.

Bulgular

Marmara ve Karadeniz'den mart ve kasım aylarında toplanan istavrit balığı karaciğer dokusu SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ile vitamin A düzeyleri Tablo 1'de verilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre; dönemler karşılaştırıldığında, Marmara Denizi'nden toplanan örneklerin 2. Dönem GPx aktivitesi 1. Döneme göre artmış ($p \leq 0.01$), 2. Dönem Vitamin A düzeyi 1. Döneme göre düşük ($p \leq 0,05$) bulunurken, Karadeniz örneklerinde iki dönem arasında istatistik bir önem tespit edilememiştir.

Denizler karşılaştırıldığında; her iki dönemde de Karadeniz örnekleri vitamin A düzeyi (1.Dönem $p \leq 0,05$, 2. Dönem $p \leq 0,01$) ve CAT aktivitesi (1.Dönem $p \leq 0,01$, 2. Dönem $p \leq 0,05$) Marmara'dan düşük, GPx aktivitesi 1. Dönem Marmara'dan yüksek ($p \leq 0,05$) bulunmuştur.

Tartışma

Kirlenmeyi ve etkilerini belirleme çabalarında su kalitesinin biyolojik açıdan değerlendirilmesinin önemli bir yeri vardır. Biyolojik sistemler genellikle kirlenmeye büyük duyarlılık gösterirler. Bu nedenle kimyasal örnekleme çalışmaları sırasında gözden kaçabilecek bazı kirlenme durumlarını, biyolojik sistemlerdeki değişiklikleri izleyerek belirlemek mümkün olabilmektedir (Atay ve Pulatsü 2000).

Gabryelak ve ark. (1983)'nın tatlı su balıkları eritrositlerinde mevsimsel değişikliğin peroksit metabolizması enzimleri üzerine olan etkisini araştırdıkları çalışmada, ilkbahar aylarında sıcaklığın yükselmesine paralel olarak antioksidan enzim aktivitelerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Filho ve ark. (2001)'nin kirlilik ve mevsimin çiklet balıkları antioksidan savunma sistemi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, kirlilik olmayan bölgeden ilkbahar=kasım ve sonbahar=nisan olmak üzere 2 dönemde topladıkları örnek karaciğerlerinde CAT, SOD ve GST aktivitesi MDA, total glutatyon, okside glutatyon düzeylerini ölçmüş ve kasım ayında enzim aktivitelerinin yükseldiğini, total glutatyon, okside glutatyon düzeylerinin arttığını bildirmişler ve bunu

sıcaklık artışı ile oksijen tüketiminin atmasına bağlamışlardır.

Bu çalışmada, Marmara Denizi İstavritleri, iki dönem karşılaştırıldığında 2. Dönem (kasım) GPx aktivitesi 1. Döneme (mart) göre artmış olup $p \leq 0.01$ düzeyinde istatistiksel anlamlılık tespit edilmiştir. Mart ayı deniz sıcaklığı ortalaması 8.4°C olup kasım ayında 14.9°C olduğu dikkate alındığında Gabryelak ve ark. (1983) ve Filho ve ark. (2001)'nin sonuçlarıyla örtüşmektedir. Yüksek sıcaklık oksijen tüketimini arttırarak ROT'lerinin yükselmesine neden olur ve oksidatif stresi başlatır. Adaptif yanıt, antioksidan savunma sistemindeki değişimlerdir. Balıklar ektotermik canlılar oldukları için çevre ısısı çok önemlidir. Isı değişimi balıklarda oksidatif strese sebep olabilir (Kaymak ve ark. 2014). Palace ve ark. (1998) oksidatif stres sonucu antioksidan bir vitamin olan vitamin A düzeyinin alabalık karaciğerde düştüğünü bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki vitamin A düzeyindeki düşüş çevresel etki sonucu oluşan oksidatif stres ile ilgili olabilir.

Ağır metaller, pestisitler, aromatik hidrokarbonlar, poliklorlu bifeniller, dioksinler, gibi çevre kirleticileri balıklarda serbest radikalleri arttırarak oksidatif stresi başlatır. (Akbulut ve ark. 2014). Oluşan stresin yoğunluğu, süresi ve canlının o kirleticie duyarlılığı, antioksidan enzim aktivitesini ve ekspresyonunu arttırabilir ya da inhibisyonuna sebep olabilir (Gad 2011).

Vinodhini ve Narayan (2009) yüksek konsantrasyondaki Cu'nın sazan karaciğerinde SOD, GPx ve CAT aktivitesini önce arttırdığını daha sonra GPx ve CAT aktivitesinin düşürdüğünü ve CAT'ı inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Padmini ve ark. (2008) ağır metal kirliliğine maruz kalmış gri kefalde mevsimsel değişimin etkisini araştırdıkları çalışmada karaciğer CAT ve SOD aktivitesinin kirlilikle birlikte yaz aylarında kışa oranla daha da düştüğünü, kontrol

grubunda (kirleticiye maruz kalmayan balıklar) ise mevsimsel değişimin antioksidan enzimlerin aktivitesini etkilemediğini tespit etmişlerdir. Ağır metallerin balıklarda oksidatif stres oluşturduğunu artan, radikallerin balıkların antioksidan savunmasını yetersiz bıraktığını ve ısı artışının oksidatif stresi arttırdığını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada denizler karşılaştırıldığında; her iki dönemde de Karadeniz örnekleri vitamin A düzeyi ve CAT aktivitesi Marmara'dan düşük, GPx aktivitesi mart ayında Marmara'dan yüksek bulunmuştur. Mart ayında istatistiki önem GPx $p \leq 0,05$, CAT $p \leq 0,01$ ve vitamin A $p \leq 0,05$ olup, kasım ayında CAT $p \leq 0,05$, vitamin A düzeyi $p \leq 0,01$ olarak bulunmuştur. Çalışmada GPx aktivitesinin yüksek CAT aktivitesi ve vitamin A düzeyinin düşük olması Vinodhini ve Narayan (2009), Padmini ve ark. (2008)'in çalışması ile benzerlik göstermektedir. Karadeniz'in oksijence zengin tabaka (10-50 m)'sında çözülmüş Cu ve Zn yüksek konsantrasyonlarda bulunur (Anonim 2000). Karadeniz'de bulunan ağır metaller çalışmadaki balıklarda oksidatif stresi indükleyerek CAT aktivitesini inhibe etmiş, vitamin A'nın harcanmasına sebep olmuş olabilir.

Aquatik çevre kirleticilerinden biri olan herbisitler oksidatif stresi arttırarak antioksidan enzim aktivitelerinde inhibisyona neden olurlar (Kaymak ve ark. 2014). Gabriyelak ve Klekot (1985) tatlı su balıklarındaki çalışmalarında herbisitlere en duyarlı enzimin GPx olduğunu ve aktivitesinin arttığını tespit etmişler, herbisite uzun süre maruz kalmanın canlıda bu enzim aktivitesini inhibe edeceğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda mart ayında yakalanan Karadeniz istavritleri karaciğer GPx aktivitesinin Marmara'dan yüksek bulunması Gabriyelak ve Klekot (1985)'un çalışmasıyla uyumaktadır. Başka bir çalışmada Cheung ve ark. (2001)'ları PAH bileşiklerinin midyelerde CAT aktivitesini düşürdüğünü ancak GPx ve SOD

aktivitelerini kirletici konsantrasyonuna bağlı olarak arttırdığını tespit etmişlerdir. Mart ayında Karadeniz istavritlerindeki GPx aktivitesinin Marmara'dan yüksek CAT aktivitesinin düşük tespit edilmesi Cheung ve ark.(2001)'nın çalışmasıyla benzerlik göstermektedir. Petrolün çözünebilir formları PAH'lardır ve balıklarda oksidatif strese yol açar (Noguiera ve ark. 2011). Karadeniz'deki muhtemel petrol ve petrol ürünleri, herbisit ve ağır metaller istavritlerde oksidatif stresi indüklemiş olabilir.

Marmara örneklerinde GPx aktivitesinin mart ayında Karadeniz'den düşük, her iki dönemde de CAT aktivitesinin ve vitamin A düzeyinin yüksek bulunması; çevresel faktör ya da kirleticilerce indüklenen oksidatif stresi Marmara İstavritleri antioksidan savunma sistemi Karadeniz istavritlerine göre daha iyi kompanze etmiş olabilir.

Kaynaklar

Abhijith, B.D., Ramesh, M., Poopal, R.K. (2016).

Responses of metabolic and antioxidant enzymatic activities in gill, liver and plasma of *Catla catla* during methyl parathion exposure. The Journal of Basic and Applied Zoology, 77:31-40.

Aebi, H.E. (1983). Catalase in: H.U.Bermeyer (Hrsy).

Methods of enzymatic analysis. Verlag Chemie; Weinheim, Bd. III, 273-286.

Alak, G., Sönmez, A.Y., Hisar, O. (2011). Bazı

Pestisitlerin Balıkların Antioksidan Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkileri. J. of Agricultural Faculty of Atatürk Univ., 42 (1):91-93.

Akbulut, C., Kaymak, G., Esmer, H. E., Yön, N. D.,

Kayhan, F. E. (2014). Balıklarda ağır metal ve pestisitler tarafından indüklenen oksidatif stres mekanizmaları. Ege J Fish Aqua Sci., 31(3):155-160.

Anonim (2000). Ulusal Çevre Eylem Planı (UÇEP)

İhtisas Komisyon Raporu. T.C. Çevre Bakanlığı Yayınları, 2-91.

- Atay, D., Pulatsü, S. (2000).** Su Kirlenmesi ve Kontrolü. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Yayın No:1513: 1-178.
- Barsiene, J., Lehtonen, K.K., Koehler, A., Broeg, K., Vuorinen P.J., Lang, T., Pempkowiak, J., Syvokiene, J., Dedonyte, V., Rybakovas, A., Repecka, R., Vuontisjarvi, H., Kopecka, J. (2006).** Biomarker responses in flounder (*Platichthys flesus*) and mussel (*Mytilus edulis*) in the Klaipeda-Bütinge area (Baltic Sea). *Marine Pollution Bulletin* in press.
- Carvalho, C.S., Bernusso, V.A., Araújo, H.S., Espíndola, E.L., Fernandes, M.N. (2012).** Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*. *Chemosphere*, 89:60–69.
- Cheung, C. C., Zheng, G. J., Lí, M. Y., Richardson, B. J., Lam, P. K. S. (2001).** Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna viridis*. *Aquatic Toxicol.*, 52:189-203.
- Esin, A., Ekni, M., Gamgam, H. (1997).** Sağlık Bilimlerinde İstatistik. Gazi Üniversitesi Yayın No: 171: 355-365, Ankara.
- Filho, W. (1996).** Fish antioxidant defenses-A comparative approach. *Brazilian J. Med. and Biol. Res.*, 29: 1735-1742.
- Filho, W., Torres, M.A, Tribess, T.B., Pedrosa, R.C., Soares, C.H.L. (2001).** Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). *Braz J Med Biol Res.*, 34(6):719-726.
- Farombi, E. O., Adelowo, O. A., Ajimoko, Y. R. (2007).** Biomarkers of Oxidative Stress and Heavy Metal Levels as Indicators of Environmental Pollution in African Cat Fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. *Int J Environ Res Public Health.*, 4(2):158–165.
- Gabryielak, T., Piatkowska, M., Leyko, W., Peres, G. (1983).** Seasonal Variations in The Activities of Peroxide Metabolism Enzymes in Erythrocytes of Freshwater Fish Species. *Comp. Biochem. Physiol.*, 75: 383-385.
- Gabryielak, T., Klekot, J. (1985).** The effect of paraquat on the peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater fish species. *Comp Biochem Physiol C*; 81(2):415-418.
- Gad, N. S. (2011).** Oxidative stress and antioxidant enzymes in *Oreochromis niloticus* as biomarkers of exposure to crude oil pollution. *IJESE*, 1: 49-58.
- Garrigues, P., Narbonne, J.F., Lafaure, M., Ribera, D., Lemaire, P., Raoux, C., Michel, X., Salaun, J.P., Monad, J.L., Romeo, M. (1993).** Banking of environmental samples for short-term biochemical and chemical monitoring of organic contamination in coastal marine environments; the GICBEM experience (1986-1990). *The Science of the Total Environment*, 139/140: 225-236.
- Grys, S. (1980).** Indirect spectrophotometry on vitamin A product. Peak signal readout. *Methods in Enzymology*, 67: 195-199.
- Karadag, H., Fırat, Ö., Fırat, Ö. (2014).** Use of Oxidative Stress Biomarkers in *Cyprinus carpio* L. for the Evaluation of Water Pollution in Atatürk Dam Lake (Adiyaman, Turkey). *Bull Environ Contam Toxicol.*, 92:289–293.
- Kaymak, G., Akbulut, C., Esmer, H.E., Kayhan, F.E., Yön, N.D. (2014).** Sucul Organizmalarda Çevresel Şartlara Karşı Geliştirilen Oksidatif Stres Mekanizmaları ve Adaptif Yanıtlar. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 4: 137-151.
- Lehtonen, K.K., Schiede, D., Köpler, A., Lang, T., Vuorinen P.J., Förllin, L., Barsiene, J., Pempkowiak, J., Gercken, J. (2006).** The BEEP

project in the Baltic Sea: Overview of results and outline for a regional biological effects monitoring strategy. Marine Pollution Bulletin in press.

Misra, H.P., Fridovich, I. (1972). Role of Superoxide Anion in the Autooxidation of Epinephrine and Simple Assay for Superoxide Dismutase. J. Biol. Chem., 247: 283-293.

Napierska, D., Podolska, M. (2005). Biomarkers of contaminant exposure: results of a field study with flounder (*Platichthys flesus*) from the southern Baltic Sea. Marine Pollution Bulletin 50: 758-767.

Narbonne, J.F., Aarab, N., Clerandeanu, C., Daubeze, M., Narbonne, J., Champeau, O., Garrigues, P. (2005). Scale of classification based on biochemical markers in mussels: application to pollution monitoring in Mediterranean coasts and temporal trends. Biomarkers, 10 (1): 58-71.

Nogueira, L., Sanches, A.L., Silva, D.G., Ferrizi, V.C., Moreira, A.B., Almeida, E.A. (2011). Biochemical biomarkers in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) after short-term exposure to diesel oil, pure biodiesel and biodiesel blends. Chemosphere, 85: 97-105.

Orbea, A., Fahimi, D.H., Cajaravile, M.P. (2000). Immunolocalization of four antioxidant enzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. Histochem. Cell. Biol., 114: 393-404.

Padmini, E., Vijaya Geetha, B., Usha Rani, M. (2008). Liver oxidative stress of the grey mullet *Mugil cephalus* presents seasonal variations in Ennore estuary. Braz J Med Biol Res., 41(11):951-5.

Paglie, D.E., Valantine, W.N. (1967). Studies on Qualitative and Quantative Characterization of Eeythrocyte Glutathion Peroxidase. J.Lab.Clin. Met., 70: 158-169.

Palace, V.P., Brown, S.B., Baron, C.L., Fitzsimons, J., Woodin, R.B., Stegeman, J.J., Klaverkamp, J.F. (1998). An evaluation of the relationships among oxidative stress, antioxidant vitamins and early

mortality syndrome (EMS) of lake trout (*Salvelinus namaycush*) from lake ontario. Aquatic Toxicol., 43: 195-208.

Radovanovic, T.B., Borkovic-Mitic, S.S., Perendija, B.R., Despotovic, S.G., Pavlovic, S.Z., Cakic, P.D., Saicic, Z.S. (2010). Superoxide dismutase and catalase activities in the liver and muscle of barbel (*Barbus barbus*) and its intestinal parasite (*Pomphorynchus laevis*) from the Danube river, Serbia. Arch. Biol. Sci., Belgrade, 62 (1): 97-105.

Sarkar, A., Ray, D., Shrivastava Amulya, N. (2006). Molecular Biomarkers: Their significanve and application in marine pollution monitoring. Ecotoxicology, 15(4): 333-340.

Sevcikova, M., Modra H., Slaninova A., Svobodova Z. (2011). Metals as a cause of oxidative stress in fish: a review. Veterinarni Medicina, 56 (11): 537-546.

Stoliar, O.B., Lushchak, V.I. (2012). Environmental Pollution and Oxidative Stress in Fish.

Erişim tarihi: 15.02.2018

Erişim

adresi:

<https://www.intechopen.com/books/oxidative-stress-environmental-induction-and-dietary-antioxidants/environmental-pollution-and-oxidative-stress-in-fish>

Sun, Y., Oberley, L.W., Li, Y. (1988). A simple for clinical assay of superoxide dismutase. Clin. Chem., 34: 497-500.

Suzuki, J.P., Katoh, N.A. (1990). A simple and cheap method for measuring serum vitamin A in catttle using only spectrophotometer. J. Vet. Sci., 52: 1281-1283.

Vinodhini, R., Narayanan, M. (2009). Biochemical changes of antioxidant enzymes in common carp (*Cyprinus carpio* L.) after heavy metal exposure. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 33(4): 273-278.

Yılmaz, H.R., Türköz, Y., Yüksel, E., Örün, İ. (2006).

An Investigation of Antioxidant Enzymes Activities in Liver of *Cyprinus carpio* Taken from Different Stations in the Karakaya Dam Lake. International Journal of Science and Technology, 1(1): 1-6.

Yonar, S.M. (2017). Farklı Su Sıcaklıklarında Tutulan

Pullu Sazan (*Cyprinus carpio*)’da Çörek Otu (*Nigella sativa*) Yağının Oksidatif Stres ve Bazı Antioksidan

Parametrelere Etkisi. Türk Tarım Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 5(9): 1038-1043.

Zorita, I., Strogyloudi, E., Buxens, A., Mazon, L.I.,

Papathanassiou, E., Soto, M., Cajaraville, M.P.

(2005). Application of two SH-based methods for metallothionein determination in mussels and inter calibration of the spectrophotometric method: laboratory and field studies in the Mediterranean Sea.

Tablo 1. Mart (Dönem 1.) ve Kasım (Dönem 2.) dönemleri Marmara ve Karadeniz (denizler ve dönemler arası) istavrit karaciğer örneklerine ait GPx, SOD, CAT aktiviteleri ve vitamin-A düzeyleri

		GPx (nmol NADPH+H+/dakika/mg-protein)		SOD (U/g-protein)		CAT (k/g-protein)		Vitamin-A (µg/g-yaş ağırlık)	
		Marmara	Karadeniz	Marmara	Karadeniz	Marmara	Karadeniz	Marmara	Karadeniz
(Dönem 1)	n	8	10	12	15	12	15	15	15
	x ± Sx	3,082 ± 0,61a	6,74 ± 1,91*a	0,0848±0,036a	0,0282±0,0052-a	0,00217±0,00027a	0,000531±0,00005**a	86,54±13,81a	54,55±3,46*a
(Dönem 2)	x ± Sx	19,33 ± 2,24b	14,83 ± 1,90-a	0,0576±0,0071a	0,0273±0,0028-a	0,00701±0,0033a	0,000742±0,00013*a	54,72±6,00b	36,11±2,53**a
	n	13	11	15	13	15	15	15	15
		a-b: p<0,01	a-a: p>0,05	a-a: p>0,05	a-a: p>0,05	a-b: p>0,05	a-b: p>0,05	a-b: p<0,05	a-b: p>0,05

Denizler arası karşılaştırmada (yatay-satır) istatistiki açıdan fark - (p ≥0,05), * (p ≤ 0,05), ** (p ≤ 0,01) ile gösterilmiştir.

Dönemler arası karşılaştırmada (Dikey-her bir sütun için ayrı ayrı) istatistiksel farklılıklar, farklı harfler ile gösterilmiştir.

Karadeniz barbunya balığının (*Mullus barbatus ponticus*) ilk üreme boyunun tahmini

Estimation of size at first maturity of Black Sea red mullet (*Mullus barbatus ponticus*)

Özet

Bu çalışmanın konusu Karadeniz'in ticari olarak önemli balık türlerinden barbunya balığının ilk üreme boyunun tahminidir. Eylül 2016- Mart 2017 tarihleri arasında toplam 229 örnek toplanmış ve örneklenen balıklarda total boy, vücut ağırlığı, cinsiyet ve eşeyssel olgunluk durumu belirlenmiştir. Dişi/erkek birey oranı 1:0.85 olarak hesaplanmıştır. Dişi ve erkek bireylerde ortalama total boy sırasıyla 11.62 ± 0.114 cm ve 11.07 ± 0.116 cm olarak, ortalama vücut ağırlığı 16.30 ± 0.475 g ve 13.96 ± 0.457 g olarak belirlenmiştir. Boy ağırlık ilişkisi denklemi dişiler için $W=0.0112 L^{2.954}$, erkekler için $W = 0.0098 L^{3.0045}$ ve her iki cins için $W = 0.0102 L^{2.9903}$ olarak tahmin edilmiştir.

İlk üreme boyu dişi bireyler için 10.73 cm, erkek bireyler için 10.95 cm olarak hesaplanırken her iki cins için ortak değer 10.88 cm olarak tahmin edilmiştir. Örneklenen balıkların içerisinde 10.9 cm'den küçük balıkların oranı %37.6 (86 adet) olarak belirlenmiştir. Karadeniz'deki barbunya balığı stoklarının korunması için balıkçılık düzenlemelerinde belirlenen bu boydan daha büyük bir asgari avlama boyu kısıtlaması bulunmasının yararlı olacağı söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Barbunya, ilk üreme boyu, balıkçılık yönetimi, sürdürülebilir balıkçılık

Abstract

The objective of this study is estimation of the first maturity size of Black Sea red mullet (*Mullus barbatus ponticus*) that is commercially important fish species. In total, 229 of samples were collected and measured with their total length, body weight, sex and maturity during the period from September 2016 to March 2017. Sex ratio (F/M) is determined as 1:0.85. Average total lengths for females and males were estimated as 11.62 ± 0.114 cm and 11.07 ± 0.116 cm, average body weight as 16.30 ± 0.475 g and 13.96 ± 0.457 g respectively. Length weight relationships were estimated for females as $W=0.0112 L^{2.954}$, for males as $W = 0.0098 L^{3.0045}$ and for all samples as $W = 0.0102 L^{2.9903}$.

Size at first maturity was estimated as 10.73 cm for females and 10.95 cm for males while 10.88 cm for all specimens. Proportion of fish that are smaller than length of maturity was determined as 37.6 % (86 individuals) among the sampled fish. The determining the larger minimum landing size both computed values for female and male, is recommended and it can be useful for sustainable fisheries management of red mullet stocks in Black Sea.

Keywords: Red mullet, size at first maturity, fisheries management, sustainable fisheries

Araştırma Makalesi

Yakup ERDEM

Sinop Üniversitesi, Su
Ürünleri Fakültesi, 57002,
Sinop, Türkiye

İletişim (Correspondence)

Yakup ERDEM

yakuperdem@gmail.com

Makale Bilgisi
Geliş: 02-08-2018
Kabul: 31-08-2018

Copyright © 2018 VetBio

Giriş

Avcılık yoluyla işletilen balık stoklarının korunmasında türün ilk üreme boyunun (LM) belirlenmesi önemli bir rol oynar. İlk üreme boyu balıkçılık yönetimi açısından önemli bir araç olup ebeveyn stok büyüklüğü, ilk avlama boyu (MLS) ve en küçük ağ gözü açıklığı gibi stokların durumunun değerlendirilmesi ve doğru işletilmesi açısından önemli bilgiler sağlar. Zira balık popülasyonları sınırlıdır ve stokların sürdürülebilirlikleri onların üremelerine bağlıdır (Holden ve Raitt, 1974).

Dünyada avcılıkla elde edilen su ürünleri üretim miktarı son 30 yılda nispeten sabit kalmış olup stoklardan elde edilebilecek azami ürün miktarı sınırına ulaşıldığı iddia edilmektedir. Ancak balıkçı gemileri ve av araçlarından oluşan balık avlama çabası halen dünya çapında artmaya devam etmektedir (FAO., 2016).

Karadeniz barbunya balığı (*Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927) Karadeniz'in demersal dominant balık türü olup yıllık 1500 ile- 3000 ton arasında değişen av miktarıyla kıyı balıkçılığı ve dip trol ağlarıyla avcılığın ana hedef avlarından birisidir (Genç, 2014; TUİK 2018). Genel olarak barbunya balığı tüm denizlerimizde yaşayan bir tür olmakla beraber Karadeniz'de mevcut olan balık bir alt türdür (Turan, 2006; Keskin ve Can 2009; Vasiljeva, 2012). Karadeniz barbunya balığı popülasyon ve büyüme özellikleri bakımından diğer denizlerimizden avlanan türden farklı olduğu için (Samsun ve Özdamar 1995; Kınacıgil vd., 2001; Kalaycı vd., 2007; Sümer vd., 2007; Aksu vd. 2011; Özdemir ve Erdem, 2011) türün balıkçılığının yönetimi de farklı olmak zorundadır. Oysa *Mullus barbatus ponticus* alt türünün ilk üreme boyu üzerine yapılmış herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Üreme dönemi ve yumurta verimi üzerine bir çalışma bulunmaktadır (Aydın ve Karadurmuş 2013). Diğer denizlerimizde yaşayan *Mullus barbatus* için ilk üreme boyu üzerine yapılmış

çeşitli çalışmalar mevcuttur (Akyol vd. 2000; Arslan ve İşmen, 2014; İlkyaz vd. 2018).

Bu araştırmada Karadeniz balıkçılığı açısından çok önemli bir tür olan barbunya balığının bazı popülasyon parametreleri ve ilk üreme boyunun belirlenmesi yoluyla stokun sürdürülebilir bir şekilde işletilmesi için gerekli olan ilk avlama boyu ve minimum ağ gözü açıklığı çalışmalarına katkı sağlanması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem

Çalışmanın esas materyalini Sinop ve çevresinden uzatma ve trol ağlarıyla avlanan ve Sinop tezgâhlarında pazarlanan Karadeniz barbunyası (*Mullus barbatus ponticus* Essipov, 1927) türünden Eylül 2016- Mart 2017 tarihleri arasında örneklenen toplam 219 birey oluşturmaktadır.

Örneklenen balıklarda total boy 1 mm hassasiyetli ölçüm tahtası kullanılarak, vücut ağırlığı ise 0.1 g hassasiyetli elektronik terazi ile ölçülmüştür. Daha sonra örnekler diseksiyona tabi tutularak cinsiyet ve eşeyssel olgunluk durumu belirlenmiştir. Bu amaçla gonatların rengi, kesiti, vücut boşluğunda kapladığı alan ve dokusu incelenmiş, tereddüt durumunda stereo mikroskop altında inceleme yapılmıştır. Örnekler içinde farklı cinsiyetteki bireylerin boy ortalamaları arasında gözlenen farkın istatistiksel değerlendirmesinde T test (P=0,05) kullanılmıştır.

İlk üreme boyu (L_M) logaritmik regresyon ile belirlenmiştir. Modele göre bireylerin %50'sinin eşeyssel olgunluğa eriştiği boy (L_{50}) ilk üreme boyuna (L_M) eşittir. Herhangi bir boy sınıfındaki olgun bireylerin oranı (P_L) ile balık boyu arasında; $P_L=1/(1+\exp(a+bTL))$, şeklinde sigmoid bir ilişki vardır (Piñeiro ve Saínza, 2003). Denklemi doğrusal hale getirmek amacıyla $\ln [(1/P_L)-1]$ değerleri boy sınıflarına (TL) karşı işaretlenir.

Burada elde edilen katsayılar aracılığıyla ilk üreme boyu hesaplanır.

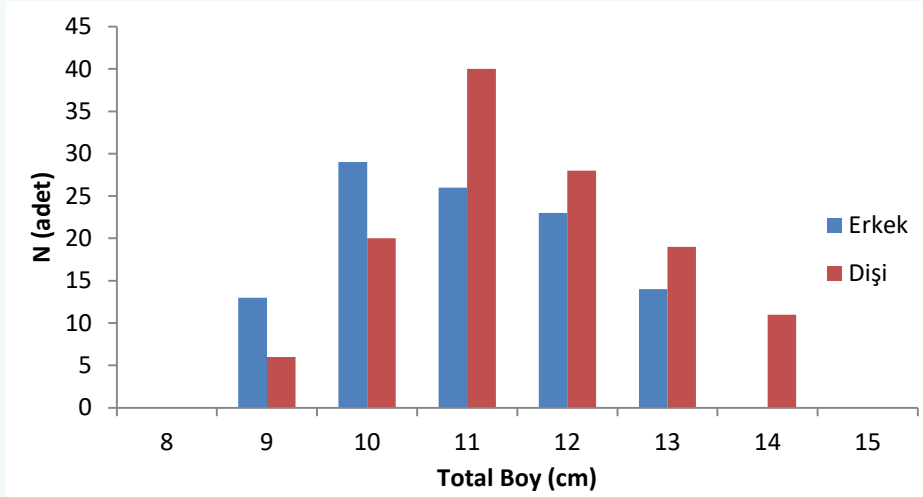
$$L_M = -a/b$$

Hesaplamalar, istatistiksel testler ve grafikler MS Excel yazılımı kullanılarak hazırlanmıştır.

Bulgular

Populasyon özellikleri

Araştırmada 124 adedi dişi, 105 adedi erkek olmak üzere toplam 229 balık örneklenmiş olup boy aralığı 8,7 – 14,4 cm arasında, vücut ağırlıkları 6,4 – 29,4 arasında değişmiş (Şekil 1.) ve cinsiyet oranı (dişi / erkek) 1:0,85 olarak hesaplanmıştır.

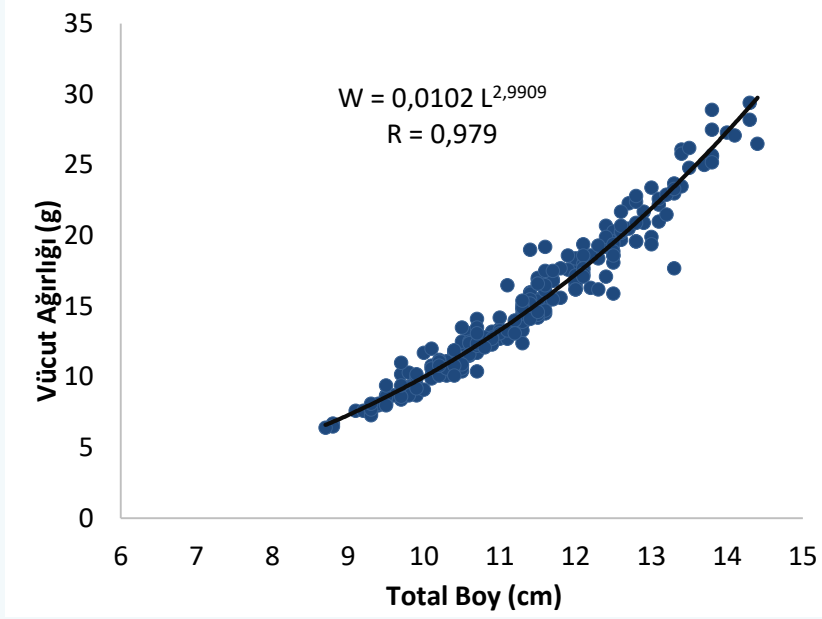


ŞEKİL 1: Örneklenen balıkların cinsiyete göre boy dağılımları.

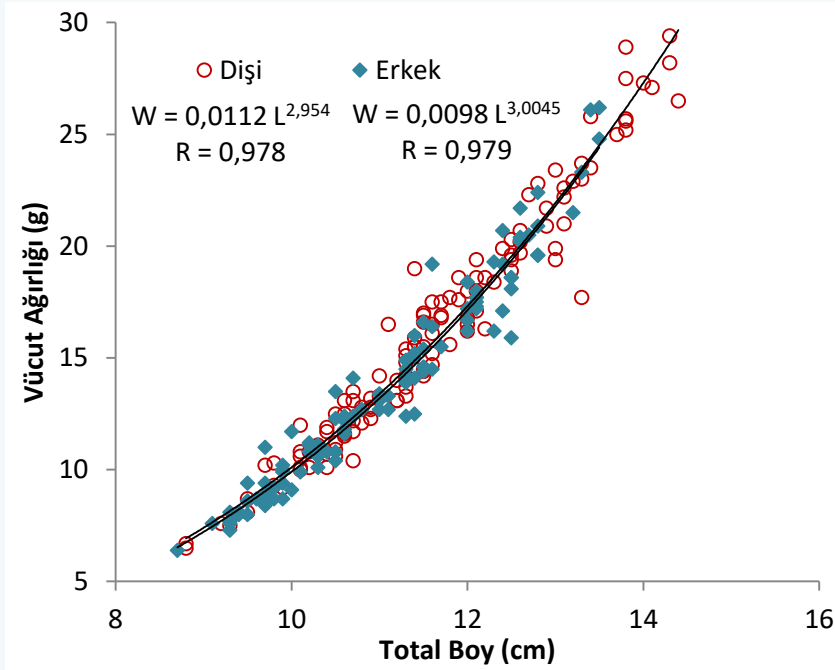
Ortalama tam boy dişi bireyler için $11,62 \pm 0,114$ cm, erkek bireyler için ve $11,07 \pm 0,116$ cm olarak hesaplanırken tüm bireyler için $11,37 \pm 0,084$ cm, ortalama vücut ağırlığı dişiler için $16,30 \pm 0,475$ g, erkek bireyler için $13,96 \pm 0,457$ g ve tüm bireyler için $15,23 \pm 0,340$ g olarak hesaplanmıştır. Farklı cinsiyetten balıkların ortalama boy ve ağırlıkları

arasında gözlenen farkın istatistiksel açıdan önemsiz ($P > 0,05$) olduğu belirlenmiştir.

Tüm bireylere ait boy ağırlık ilişkisi denklemi $W = 0,0102 L^{2,9903}$ ($R=0,979$) olarak belirlenmiştir (Şekil 2.). Dişilere ait denklem $W=0,0112 L^{2,954}$ ($R=0,978$) ve erkekler için $W = 0,0098 L^{3,0045}$ ($R=0,979$) olarak tahmin edilmiştir (Şekil 3.).



ŞEKİL 2: Örneklenen tüm bireylere ait boy – ağırlık ilişkisi.



ŞEKİL 3: Dişi ve erkek bireylere ait boy ağırlık ilişkisi.

İlk üreme boyu

Farklı cinsiyetler için ilk üreme boyunda farklılık olup olmadığını belirlemek amacıyla önce her iki

cinsiyetten bireyler ayrı ayrı değerlendirilmiş ve yapılan t testi sonucunda üreme boyu bakımından

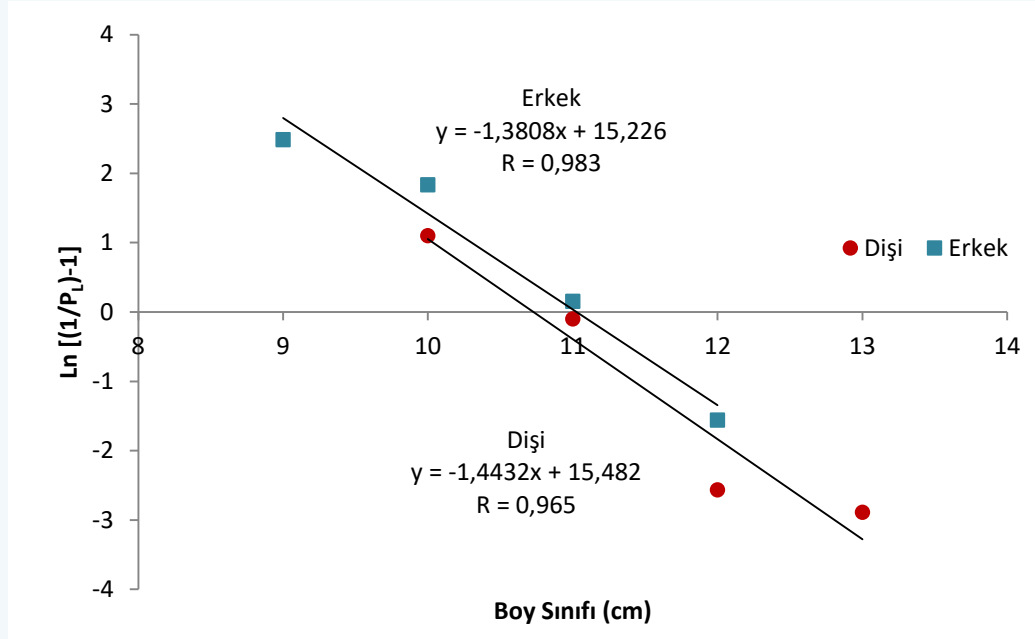
cinsiyetler arasında gözlenen farkın istatistiksel açıdan önemsiz ($P>0,05$) olduğu belirlenmiştir (Tablo 1.).

Erişkin bireylerin toplam balık sayılarına oranları (P_L) hesaplandıktan sonra $\ln [(1/P_L)-1]$

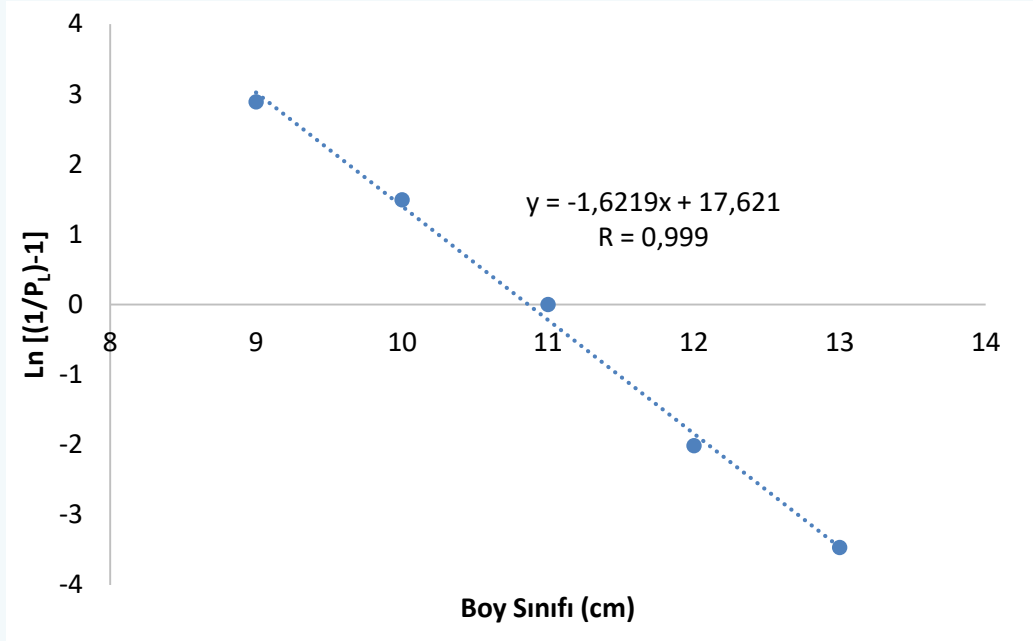
değerleri ile boy sınıfları arasındaki regresyon denkleminin kesme noktaları (a) ve eğimleri (b) belirlenmiştir (Şekil 4. ve Şekil 5.).

TABLO 1: Dişi ve erkek balıkların eşeyssel olgunluk durumları

Boy Sınıfı (cm)	Dişi			Erkek			Genel		
	Ge	Olg	Topl	Ge	Olg	Topl	Ge	Olg	Topl
	nç	un	am	nç	un	am	nç	un	am
8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9	6	0	6	12	1	13	18	1	19
10	15	5	20	25	4	29	40	9	49
11	19	21	40	14	12	26	33	33	66
12	2	26	28	4	19	23	6	45	51
13	1	18	19	0	14	14	1	32	33
14	0	11	11	0	0	0	0	11	11
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Toplam	43	81	124	55	50	105	98	131	229



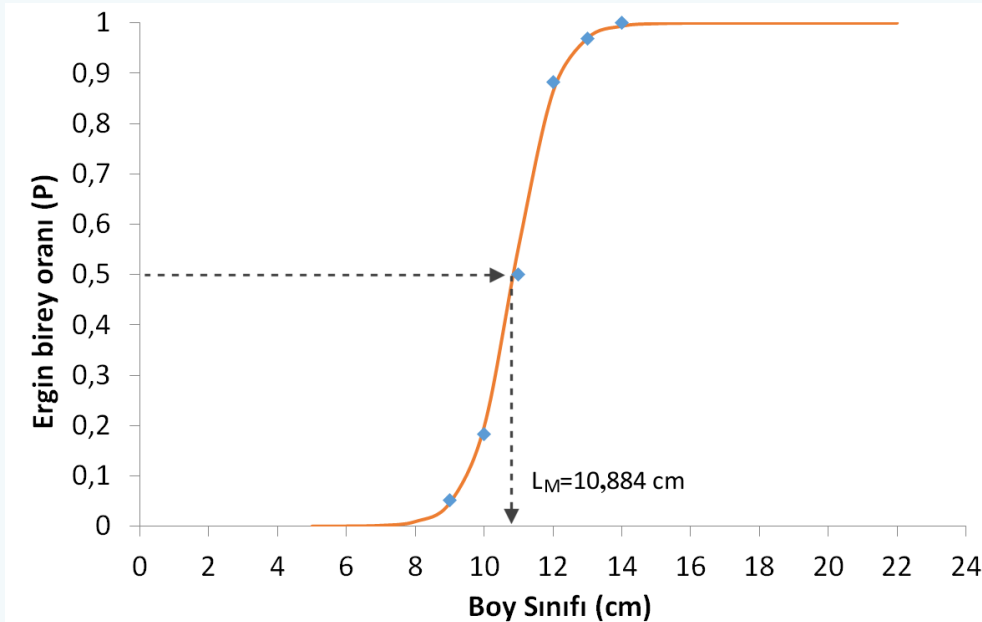
ŞEKİL 4: Dişi ve erkek balıklar için ilk üreme boyunun tahmini.



ŞEKİL 5: Tüm bireyler için ilk üreme boyunun tahmini.

Tüm bireyler için balık boyu ile ergin birey oranı arasındaki ilişki;

$P_L=1/(1+\exp (17,621 - 1,6219TL))$ şeklinde bulunmuştur (Şekil 6).



ŞEKİL 6: Tüm bireyler için boy sınıflarına göre ergin bireylerin oranı.

Şekil 4 ve 5'den elde edilen katsayılar kullanılarak ilk üreme boyu dişiler için 10,73 cm, erkek bireyler için 10,95 cm olarak hesaplanırken her iki cins için ortak değer 10,88 cm olarak tahmin edilmiştir.

Örneklenen balıkların içerisinde 10,9 cm'den küçük balıkların oranı %37,6 (86 adet) olarak belirlenmiştir.

Tartışma ve sonuç

Karadeniz barbunya balığının (*Mullus barbatus ponticus*) diğer denizlerimizde yaşayan barbunya balıklarından hem morfolojik hem de biyolojik özellikleri bakımından farklı olduğu çeşitli araştırmalarla ortaya konmuştur (Turan, 2006; Keskin ve Can, 2009; Vasiljeva, 2012) . Dolayısıyla türün avcılığına getirilecek düzenlemelerin buna göre yapılması gerekmektedir. İlk üreme boyu Ege Denizinden avlanan barbunya balıkları (*Mullus barbatus barbatus*) için 12,9 cm çatal boy (Akyol vd., 2000), dişi ve erkekler için 11,9 cm ve 12,1 cm total boy (Arslan ve İşmen, 2014), 11,56 cm total boy (İlkyaz vd., 2018) olarak tahmin edilmiş olup değerler bu çalışmada elde edilen değerden (10,88 cm) büyüktür. Anılan çalışmalarda türün stoklarının sürdürülebilir şekilde işletilmesi için ilk avlama boyunun 12 ve 13 cm olarak önerilmiş olup Karadeniz barbunyasının pazardaki fiyat oluşumu ve avcılık baskısı dikkate alındığında yasal düzenlemelerde asgari avlama boyunun 12 cm olarak uygulanmasının yararlı olacağı söylenebilir.

Örneklenen balıklar içerisinde belirlenen ilk avlama boyundan küçük balıkların oranı %37,6 olarak hesaplanmış olup, önerilen 12 cm'den küçük balıkların oranı ise %58,5 (134 adet) dir. Sürdürülebilir ve sorumlu balıkçılık açısından av araçlarının seçiciliğinin küçük balıkları avlamayacak şekilde düzenlenmesi ve denetimlerin artırılması zorunludur.

Teşekkür: Bu çalışmayı SÜF - 1901-15-02 numaralı proje olarak destekleyen Sinop Üniversitesi, Bilimsel

Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Kaynaklar

- Aksu H., Erdem Y., Özdemir S., Erdem E. (2011).** Orta Karadeniz'de avlanan barbunya (*Mullus barbatus ponticus*, Essipov, 1927) balıklarının bazı populasyon parametreleri. Journal of Fisheries Sciences.com, 5(4), 345-353.
- Akyol, O., Tosunoğlu, Z., Tokaç, A. (2000).** Investigations of the growth and reproduction of red mullet (*Mullus barbatus* Linnaeus, 1758) population in the Bay of İzmir (Aegean Sea). Anadolu University Journal of Science and Technology 1 (1): 121-127.
- Arslan M., İşmen A. (2014).** Age, growth, reproduction and feeding of *Mullus barbatus* in Saros Bay, J. Black Sea/Mediterranean Environment Vol. 20, No. 3: 184-199.
- Aydın M., Karadurmuş U. (2013).** An investigation on age, growth and biological characteristics of red mullet (*Mullus barbatus ponticus*, Essipov, 1927) in the Eastern Black Sea, Iranian Journal of Fisheries Sciences 12(2) 277 -288.
- FAO. (2016).** The state of world fisheries and aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome.
- Genc, Y. (2014).** Red mullet fisheries in the Black Sea. In: Turkish Fisheries in the Black Sea. (eds., E. Düzgüneş, B. Öztürk, M. Zengin), Turkish Marine Research Foundation, Istanbul, pp. 340-360.
- Holden M.J., Raitt D.F.S. (1974).** Manual of fisheries science Part 2 Methods of resource investigation and their application, Rome, ISSN:0429-9345.
- İlkyaz A. T., Metin G., Soykan O., Kinacıgil H. T. (2018).** Spawning season, first maturity length and age of 21 fish species from the central Aegean Sea, Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 18: 211-216.
- Kalaycı, F., Samsun, N., Bilgin, S., Samsun, O. (2007).** Length-weight relationship of 10 fish species caught by bottom trawl and midwater trawl from the Middle Black Sea, Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 7: 33-36.

- Keskin E., Can A. (2009).** Phylogenetic relationships among four species and sub-species of Mullidae (Actinopterygii, Perciformes) based on mitochondrial cytochrome B, 12 rRNA and cytochrome oxidase II genes. - Biochemical Systematics and Ecology , 37:653-661.
- Kinacigil, H.T., İlkyaz, A.T., Akyol, O., Metin, G., Çira, E., Ayaz, A. (2001).** Growth parameters of red mullet (*Mullus barbatus* L. 1758) and seasonal cod-end selectivity of traditional bottom trawl nets in İzmir Bay (Aegean Sea). Acta Adriat. 42(1): 113-123.
- Özdemir S. ve Erdem E. (2011).** Karadenizin farklı av sahalarında demersal trol ile avlanan mezzit (*Merlangius merlangus euxinus*, N.) ve barbunya (*Mullus barbatus ponticus*, E.) balıklarının av miktarı ve boy kompozisyonlarının karşılaştırılması. Journal of Fisheries Sciences.com, 5(3), 196-204.
- Piñeiro, C., Sainza, M. (2003).** Age estimation, growth and maturity of the European hake, *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) from Iberian Atlantic waters. ICES Journal of Marine Science 60(5): 1086-1102.
- Samsun O., Özdamar E. (1995).** Samsun Körfezinde 1994 – 1995 Av sezonunda barbunya (*Mullus barbatus ponticus* Es., 1927) balığına ilişkin bazı populasyon parametrelerinin tahmini, OMÜ. Fen – Edebiyat Fak. Fen Dergisi, 5(1), 90-96.
- Sümer Ç., Özdemir S., Erdem Y. (2007).** Farklı göz genişliğinde monofilament ve multifilament solungaç ağlarının barbun balığı (*Mullus barbatus ponticus* Essipv, 1927) avcılığında seçiciliğinin hesaplanması. Fırat Üniv. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 19(2):115-119.
- Turan C. (2006).** Phylogenetic relationships of Mediterranean Mullidae species (Perciformes) inferred from genetic and morphological data.
- TÜİK. (2018).** Su ürünleri istatistikleri, http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005. Erişim: 20.07.2018.
- Vasiljeva E. D. (2012).** Morphological divergence of Goatfishes (Genus *Mullus*, Mullidae, Perciformes) of the Black Sea and Mediterranean Seas and the problem of assessment of their taxonomic relationships. - Journal of Ichthyology, 52(8):485-491.

Pnömonili danalarda L-laktat konsantrasyonları

L-lactate levels in calves with pneumonia

Özet

Besi sığırı işletmelerinde pnomonilere bağlı meydana gelen ekonomik kaybı en aza indirebilmek için güvenilir bir prognoz ve rasyonel sağaltım uygulamalarının yapılması gerekmektedir. Kan L-laktat konsantrasyonunun solunum yolu hastalıklarının prognozu ve fizyopatolojik durumunun değerlendirilmesinde önemli bir belirteç olabileceği varsayımı ile (literatür destekli) bu çalışma gerçekleştirildi. Bu kapsamda 22 pnomoni (etiyojik sebepleri belirlenemeyen ve saha koşullarında yer alan) bulgusu gösteren besi hayvanlarının L-laktat düzeyleri değerlendirildi. L-laktat düzeyi 4 mmol/L üzerinde olan 4 hastanın sağaltıma yanıt vermediği, 4 mmol/L altında olan hastaların ise klinik olarak düzeldiği gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: L-laktat, pnomoni, besi danaları

Abstract

Reliable prognosis and rational treatments are needed to reduce the economic loss of the Pneumonia in beef cattle industries. This study was conducted with the assumption that blood L-lactate concentration could be an important marker in assessing the prognosis and physiopathological status of respiratory diseases (literature supported). In this context, the L-lactate levels of 22 calves with pneumonia (under field conditions and without etiology) were evaluated. It was observed that 4 patients with L-lactate levels above 4 mmol / L did not respond to treatment and those with a L-lactate below 4 mmol / L remained clinically resolved.

Key Words: L-lactate, pneumonia, beef calves.

Editöre Mektup

Hasan ERDOĞAN¹
Songül ERDOĞAN¹
Tahir ÖZALP¹
İsmail GÜNAL²
Kerem URAL¹

¹Adnan Menderes
Üniversitesi, Veteriner
Fakültesi, İç Hastalıkları
Anabilim Dalı
Işık/AYDIN

²Harran Üniversitesi
Veteriner Fakültesi, İç
Hastalıkları Anabilim Dalı,
Eyyübiye/ŞANLIURFA

İletişim (Correspondence)

Hasan ERDOĞAN
hasaner.09@gmail.com

Makale Bilgisi
Geliş: 12-06-2018
Kabul: 25-08-2018

Copyright © 2018 VetBio

Giriş

Veteriner sahada besi sığırcılığı işletmeleri temel sorunları arasında solunum sistemi hastalıkları yer almakta ve söz konusu hastalık diğer tüm hastalık etmenlerine göre daha fazla ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Jensen et al., 1976). Solunum sisteminde meydana gelen bu hastalık tablosunun oluşturduğu kayıpların profilaktik önlemlerin alınması, sağaltım giderleri, büyüme ve gelişme oranındaki gerilemeler ve hastalığın neden olduğu mortalite oranlarına bağlı geliştiği görülmektedir (Griffin, 1996; Esslemont et al., 1998). Besi sığırcılığı işletmelerinde meydana gelen bu olumsuz durumu en aza indirebilmek için, güvenilebilir bir prognoz ve rasyonel sağaltım uygulamalarının yapılması gerekmektedir. Sığırların solunum yolu kompleksi hastalıklarında (BRD), hastalığın temel sebepleri arasında immün sistemin durumu, patolojik mikroorganizmalar ve çevresel faktörlerin arasında bulunan dengenin bozulması yer almaktadır. Bu değişkenlerin arasında meydana gelen dengesizliklerin klinik olarak bronkopnomoni oluşturduğu görülmektedir (Lillie, 1974; Griffin, 1996).

Söz konusu olgu sunumunda klinik olarak pnomoni tanısı konmuş ve sağaltım uygulamaları yapılan bir işletmedeki durum tespitinin ortaya konması ve prognoz ile sağaltım öncesi L-Laktat konsantrasyonlarındaki seviyelerin ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.

Olgu Öyküsü

Makaleye konu olan olgular Aydın bölgesinde bir işletmede pnomoni bulguları gösteren hayvanların klinik takiplerinin yapılması esnasında seçildi. Söz konusu işletmedeki 22 hayvanın hemen hepsinde burun akıntısı, iştahsızlık, gözyaşı akıntısı, öksürük gibi klinik bulguların bulunduğu belirlendi. Sürü içerisinde yapılan klinik muayenede hasta hayvanların beden ısılarının artmış olduğu, oskültasyonda akciğerlerin kranio-ventral loplarda sertleşmiş yaş raller seslerinin bulunduğu

belirlendi. Söz konusu hayvanların işletmeye besi amacı ile yaklaşık 2 hafta öncesinde farklı işletmelerden getirildiği öğrenildi. Anamnez bilgileri ve klinik muayene bulguları ışığında söz konusu hayvanların sığırların solunum sistemi kompleksi hastalığına yakalanmış olduğu düşünüldü. Sağaltım ve profilaktik uygulamalara başlamadan önce işletmede bulunan hayvanlardan toplamda 3 ml olacak şekilde kan örnekleri tekniğine uygun olarak V. Jugularis' ten alındı. Alınan kan örneklerinden enzimatik-kolorimetrik yöntem kullanılarak hasta başında kullanılabilen VetPhotometer 700 DP (Diaglobal, Germany/distribitör Genartek, Turkey) cihazı ile L-laktat analizleri gerçekleştirildi.

Hasta hayvanlara sağaltım amacı ile flunixin meglumin (Flumed), Florfenikol (Nuflor), Vitamin C (Vit C Sanovel) uygulamaları yapıldı. Sağaltım uygulamalarına cevap vermeyen hayvanlar da anti bakteriyel sağaltım değiştirilerek Enrofloksasin (Baytril) uygulaması gerçekleştirildi. Yapılan tüm sağaltım uygulamalarına yanıt vermeyen hastaların ise (n=4) öldüğü bildirildi.

L-laktat ölçümlerinin değerlendirilmesinde hastalık bulguları gösteren sığırlardan 4 mmol/L ve üzerinde olanlardan 4 tanesinin klinik olarak düzelmediği belirlendi. Laktat seviyesi 4 mmol/L'nin altında olan hayvanların tamamının ise sağaltım uygulamalarının takibinde klinik olarak düzeldiği belirlendi.

Sığırların solunum sistemi hastalığı kompleksinde hastalığın şiddetinin sınıflandırılması sağaltımın başarısı, mortalite oranlarının düşürülmesi, irreverzibl lezyonlar ile sağaltım maliyetlerinin de azaltılmasında önem arz etmektedir (Lekeux, 1995). Bu kapsamda yapılan sınıflandırmalarda grup-1 hafif düzeyde hastalığı bulunan yada subklinik seyir gösterdiği ve klinik bulguların tam anlamı ile bulunmadığı, grup-2 hastalığın kompanze edilebildiği ancak belirgin bir inflamatuvar yanıtın oluştuğu, grup-3 kompanze edilemeyen klinik hastalık tablosunu gösteren ve ortaya çıkan inflamatuvar

reaksiyonların şiddetli etkisine bağlı fonksiyonel kaybı ağırlaştırarak (pozitif feed-back prensibi) ve son olarak grup-4 ise irreverzibl klinik hastalığı olan şekilde değerlendirilmektedir. Patojenler tarafından oluşturulan pulmoner lezyonlar, inflamatuvar hücreler tarafından salınan serbest oksijen radikalleri ve/veya proteolitik enzimler veya proinflamatuvar mediyatörlerinin indüklediği mekaniksel bozukluklar hayvanın performans düzeylerini ve hatta hayatta kalmasını tehdit etmektedir. Ne yazık ki, bir hekim için, bu sınıflandırmayı kapsayan koşulları klinik muayene ile belirlemenin yapılamaması yanında değerlendirmeye alınabilecek daha objektif parametrelerde mevcut değildir (Coghe vd., 2000). Bu çalışmada bahsi geçen işletmede bulunan hastaların klinik muayeneleri sonucunda hastalık semptomu gösteren ve göstermeyen hayvanların varlığı ile yapılan bu nicel değerlendirmede hemen tüm gruplar içerisinde sınıflandırılabilir olguların bulunduğu belirlendi.

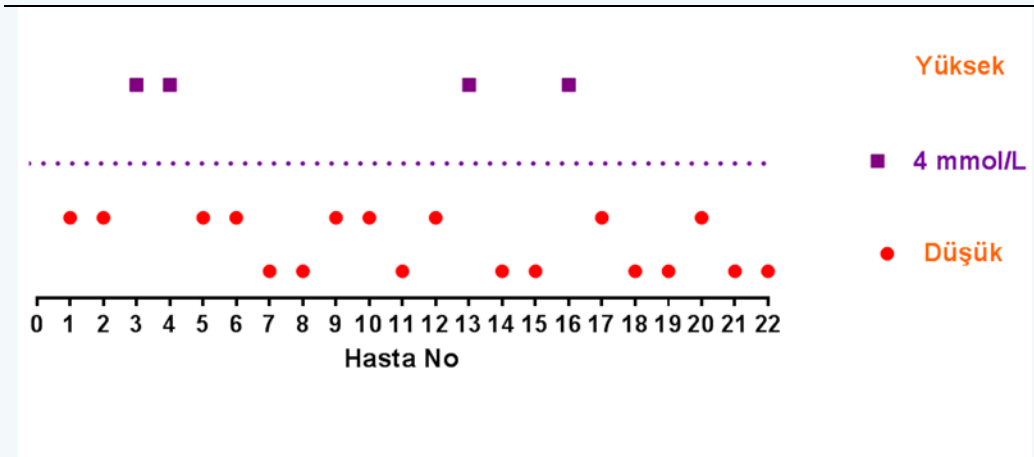
Kan L-laktat düzeyi anaerobik metabolizmayı destekleyen fizyolojik ve patolojik fenomenlerin etkisini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteç olup özellikle beşerî hekimlikte yaygın şekilde kullanılmaktadır (Evans vd., 1993; Harkins vd., 1993; Hartmann ve Mader, 1994; Pansold ve Zinner, 1994; Schwarz, 1994).

Sığırlarda, neonatal ishal (Naylor, 1987; Kaske, 1994), abomazum deplasmanları ve volvulus vakalarında (Mudron vd., 1994; Constable vd., 1998) transport sonucu şekillenen streslerde (Mitchell vd., 1988) kandaki L-laktat'ın önemi çalışılmıştır. Solunum yolu hastalıklarında oksijen taşıma zincirinde meydana gelen değişimler kanda oksijen taşıma prensiplerinde meydana gelen değişimlerin solunum frekansını

arttırması ve kardiyovasküler değişimler gibi sonuçlarının da olduğu görülmektedir (Lekeux vd., 1985, Desmecht vd., 1996). Söz konusu etkiler kan laktat seviyelerindeki olası artışı beraberinde getirmekte ve bu durum laktat seviyelerinin değerlendirilmesini daha da ön plana çıkarmaktadır. Bu nedenle, solunum bulgusu görülen danalarda laktat düzeyinin, hastalık şiddetini belirlemede indeks olabileceği hipotezi ile gerçekleştirilen bu çalışmada sonuçlar olarak 1-) insan tıbbında mevcut bulunan taşınabilir analiz cihazının danalardaki laktat ölçümlerinde etkinliğinin ve 2-) sığır pulmoner bozukluklarının prognozunda plazma laktat konsantrasyonunun olası değerinin belirlenmesine yönelik çıkarımlar elde edilmiştir. Coghe vd., (2000)'nin pnomonili buzağılarda plazma laktat konsantrasyonu ile ilk 24 saat içerisinde mortalitenin belirlenmesine yönelik yaptıkları çalışmada 3.6 mmol/L ya da 4 mmol/L olarak ölçülen laktat seviyesinin, prognostik bir biyobelirteç olarak kullanılabilirliğini bildirmektedir. Sığırlarda laktat düzeyinin tespitine yönelik gerçekleştirilen çalışmalarda, kullanılan hasta başı ölçüm cihazları amperometrik ölçüm tekniği temeline dayanan cihazlar olarak görülmektedir (Coghe ve ark. 2000, Karapınar vd., 2013). Bu çalışmaya konu olan işletmede bulunan hasta sığırların plazma laktat seviyeleri hasta başı enzimatik kolorimetrik ölçüm tekniği prensibine dayanan bir metot ile ölçülmüş ve literatürlerde bildirilen değerlere benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Söz konusu işletmede yapılan değerlendirmenin ölçüm tekniğindeki farklılık da göz önüne alındığında solunum sistemi kompleksi hastalığı bulunan sığırlarda kullanılabilir bir cihaz olduğu ve diğer cihazlar ile de karşılaştırılma yapılması gerektiği düşünülmektedir

Tablo 1: Pnomonili danaların L-laktat seviyeleri
Table 1: L-laktat levels of Calves with pneumomia

Vaka No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Laktat (mmol/L)	2.05	2.04	5,10	6.64	2.87	2.06	1.03	1.35	2.66	2.81	1.04
Vaka No	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Laktat (mmol/L)	2.67	5.63	1.6	3	5.57	2.88	1.33	7.73	2.05	1.31	1.07



Şekil 1: Pnomonili danaların L-laktat seviyeleri
Figure 1: L-laktat levels of Calves with pneumomia

Kaynaklar

- Coghe, J., Uystepuyst, C. H., Bureau, F., Detilleux, J., Art, T., Lekeux, P. (2000). Validation and prognostic value of plasma lactate measurement in bovine respiratory disease. *The Veterinary Journal*, 160(2), 139-146.
- Constable, P. D., Streeter, R. K., Koenig, G. R., Perkins, N. R. (1998). Blood L-lactate and pyruvate concentrations and lactate-pyruvate ratio in 41 cattle with abomasal volvulus. In *Proceedings of the XXth World Buiatrics Congress*, Sydney, Australia, pp. 121-3.
- Desmecht, D. J.-M., Amory, H., Linden, A. S., Lekeux, P. (1996). Haemodynamic dysfunctions involved in experimental bovine pneumonic pasteurellosis. *Journal of Experimental Animal Science* 37, 173-89.
- Esslemont, R. S., Kossaibati, N. A., Reeve-Johnson, L. (1998). The costs of respiratory diseases in dairy heifer

calves. In *Proceedings of the XXth GRIFFIN*, D. (1997). Economic impact associated with respiratory disease in beef cattle. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 13, 367-78.

Evans, D. L., Harris, R. C., Snow, D. H. (1993). Correlation of racing performance with blood lactate and heart rate after exercise in Thoroughbred horses. *Equine Veterinary Journal* 25, 441-5.

Griffin, D. (1996). Etiology, pathogenesis, and clinical signs of bovine respiratory disease. In *Bovine Respiratory Disease*, Sourcebook for the Veterinary Professional, pp. 6-11. Designed and produced by Veterinary Learning Systems and made possible by an educational grant from Schering-Plough Animal Health.

Harkins, J. D., Beadle, R. E., Kamerling, S. G. (1993). The correlation of running ability and physiological variables in

- Thoroughbred racehorses. *Equine Veterinary Journal* 25, 53–60.
- Hartmann, U., Mader, A. (1994).** Importance of the lactate parameter for performance diagnosis and for the regulation of training in top competition athletics and in recreational sports. In *Workshop Report Accusport*, Zürich, March 18, pp. 14–20.
- Jensen, R., Pierson, R.E., Braddy, P.M., Saari D.A., Lauerman L.H., England J.J., Horton D.P., McChesney A.E. (1976).** Diseases of yearling feedlot cattle in Colorado. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 169, 497–9.
- Kaske, M. (1994).** Pathophysiologische Aspekte der neonatalen Kälberdiarrhoe. *Tierärztliche Umschau* 49, 336–48.
- Karapinar, T., Kaynar, O., Hayirli, A., Kom, M. (2013).** Evaluation of 4 point-of-care units for the determination of blood L-lactate concentration in cattle. *Journal of veterinary internal medicine*, 27(6), 1596-1603.
- Lekeux, P., Verhoeff, J., Hajer, R., Breukink, H. J. (1985).** Respiratory syncytial virus pneumonia in Friesian calves: physiological findings. *Research in Veterinary Science* 39, 324–7.
- Lekeux, P. (1995).** Bovine respiratory disease complex. An European perspective. *The Bovine Practitioner* 29, 71–5.
- Lillie, L.E. (1974).** The Bovine Respiratory Disease Complex. *Canadian Veterinary Journal* 15, 233–42.
- Mitchell, G., Hattinng, J., Ganhao, M. (1988).** Stress in cattle assessed after handling, after transport and after slaughter. *The Veterinary Record* 123, 201–5.
- Mudron, P., Sallmann, H.P., Rehage, J., Höltershinken, M., Kovac, G., Bartko, P., Scholz, H. (1994).** Auswirkungen einer operativen Reposition der linksseitigen Labmagenverlagerung auf Parameter des Energiestoffwechsels bei Milchkühen. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift* 101, 341–80.
- Naylor, J. M. (1987).** Severity and nature of acidosis in diarrheic calves over and under one week of age. *Canadian Veterinary Journal* 28, 168–73.
- Pansold, B., Zinner, J. (1994).** Lactate – an important performance-diagnostic parameter in sports medicine. In *Workshop Report Accusport*, Zürich, March 18, pp. 9–13.
- Schwarz, L. (1994).** Regulation of training in health oriented sport. In *Workshop Report Accusport*, Zürich, pp. 21–3