

e-ISSN: 2618-6551



Volume 05 Issue 02 December 2022

**Mediterranean Fisheries
& Aquaculture Research**

MedFAR

<https://dergipark.org.tr/medfar>



Mersin University
Mediterranean Fisheries and Aquaculture
Research (MedFAR)

e-ISSN: 2618-6551

Volume/Cilt 05 Issue/Sayı 02 (2022) December/Aralık

<https://dergipark.org.tr/medfar>



Mersin University
Mediterranean Fisheries and Aquaculture
Research (MedFAR)

e-ISSN: 2618-6551

Journal Boards

Editor in Chief

Prof. Dr. Mehmet Tahir ALP

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Editors

Instructor Dr. Özgür ÖZBAY

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Instructor Dr. İsmail AKÇAY

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Res. Assist. Gülsemin ŞEN AĞILKAYA

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Res. Assist. Cengiz KORKMAZ

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Section Editor

Prof. Dr. Özcan AY

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Biology

Prof. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Biology, Basic Sciences

Prof. Dr. Hüseyin ÖZBİLGİN

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Fisheries

Prof. Dr. Fatih ÖĞRETMEN

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Agriculture Science

Prof. Dr. Selmin ÖZER

Mersin University, Faculty of Fisheries (Türkiye)

Fisheries

Prof. Dr. M. Tolga DİNÇER

Ege University, (Türkiye)

Processing Technology

Prof. Dr. Mohamed Salah ROMDHANE

National Agronomic Institute (Tunisia)

Ecologie marine, aquaculture

Dr. Pablo SANCHEZ-JEREZ

University of Alicante, Department of Marine

Science and Applied Biology. (Spain)

Environmental Sciences and Engineering

Editorial Advisory Board

Prof. Dr. Vahdet ÜNAL
Ege University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Ercüment GENÇ
Ankara University,
Department of Fisheries and
Aquaculture Engineering (Türkiye)

Prof. Dr. Mustafa YILDIZ
Istanbul University
Faculty of Aquatic Sciences (Türkiye)

Dr. Fabio MASSA
Senior Expert on Aquaculture (Italy)

Prof. Dr. Catherine MARIJOULS
AgroParisTech, UMR SAD-APT,
Université Paris-Saclay (France)

Prof. Dr. Gökhan GÖKÇE
Çukurova University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Oya IŞIK
Çukurova University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. İoannis KARAKASSİS
University of Crete,
Biology Department (Greece)

Prof. Dr. Yusuf BOZKURT
Iskenderun Technical University
Faculty of Marine Sciences and
Technology (Türkiye)

Prof. Dr. Arzu ÖZLÜER HUNT
Mersin University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Levent BAT
Sinop University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Özcan AY
Mersin University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Hüseyin ÖZBİLGİN
Mersin University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Asst. Prof. Dr. John A. THEODOROU
University of Patras,
Department of Animal Production,
Fisheries & Aquaculture (Greece)

Asst. Prof. Dr. Jure BRČIĆ
University of Split,
Department of Marine Studies, (Croatia)

Prof. Dr. Fatih ÖĞRETMEN
Mersin University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Selmin ÖZER
Mersin University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Prof. Dr. Ferbal ÖZKAN YILMAZ
Mersin University,
Faculty of Fisheries (Türkiye)

Post Graduate Davide FEZZARDI
General Fisheries Commission
for the Mediterranean (GFCM)
of the Food and Agriculture
Organization of the United
Nations (FAO) (Italy)

Specialist Houssam HAMZA
Ministry of Agriculture, (Tunisia)

Asst. Prof. Dr. Ekin AKOĞLU
Middle East Technical University,
Institute of Marine Sciences (Türkiye)



Mersin University
Mediterranean Fisheries and Aquaculture
Research (MedFAR)

e-ISSN: 2618-6551

TABLE OF CONTENTS

RESEARCH ARTICLES

Biometric Features of marbled spinefoot *Siganus rivulatus* (Forsskål & Niebuhr, 1775) from Mersin Bay (Northeastern Mediterranean), Turkey

Nuray Çiftçi, Mısra Bakan, Deniz Ergüden, Deniz Ayas

27-36

Effects of Acadian Marine Plant Extract Powder (AMPEP) and ammonium phosphate as nutrient enrichment on the ice-ice disease occurrence and growth performance of seaweed *Kappaphycus striatus*

Albarisris B. Tahiluddin, Abdurazis J. Andon, Mardrina A. Burahim

37-46

Growth and Survival Rates and Feed Utilization of Orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* Cultured at Different Stocking Densities in Floating Net Cage

Ainulyakin H. Imlani, Albaris B. Tahiluddin, Jurmin H. Sarri, Morsid H. Imlani

47-53

***Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) Ekstraktlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri**

Büşra Peksezer, Mehmet Tahir Alp, Deniz Ayas

54-64

Teleskop (*Carassius Auratus*) Balığında *Ichthyophthirius Multifiliis* (Fouget, 1876) Enfeksiyonu

Cafer Erkin Koyuncu

65-70

Biometric Features of marbled spinefoot *Siganus rivulatus* (Forsskål & Niebuhr, 1775) from Mersin Bay (Northeastern Mediterranean), Turkey

Nuray ÇİFTÇİ^{1*} , Misra BAKAN¹ , Deniz ERGÜDEN² , Deniz AYAS¹ 

¹ Mersin University, Faculty of Fisheries, Mersin, Turkey

² Iskenderun Technical University, Marine Sciences and Technology Faculty, Iskenderun, Turkey

*Corresponding author e-mail: nsciftci@gmail.com

ABSTRACT

In the study, it was aimed to determine the morphometric measurements of *Siganus rivulatus* (Forsskål & Niebuhr, 1775) sampled from Mersin Bay in February 2021. The average value of some morphometric measurements of fish from Mersin Bay (n=196) were found that the total length 17.87 ± 3.11 cm, standard length 13.88 ± 1.96 cm, fork length 17.06 ± 1.35 cm, head length 3.60 ± 0.76 cm, eye diameter 1.08 ± 0.23 cm, interorbital distance 1.60 ± 0.34 cm, body width 2.32 ± 0.48 cm, dorsal fin base length 10.45 ± 2.19 cm, anal fin base length 6.26 ± 1.31 cm, pectoral fin length 2.56 ± 0.53 cm and caudal peduncle height 0.78 ± 0.16 cm. The total length-weight relationship of the species was determined as $W = 0.008 \times TL^{3.16}$ ($r^2=0.973$) and it was found that the fish showed positive allometric growth.

KEYWORDS: *Siganus rivulatus*, Mersin Bay, Morphometric measurements, Length-weight relationships.

How to cite this article: Çiftçi, N., Bakan, M., Ergüden, D., Ayas, D. (2022)
Biometric Features of marbled spinefoot *Siganus rivulatus*
(Forsskål & Niebuhr, 1775) from Mersin Bay
(Northeastern Mediterranean), Turkey.
MedFAR., 5(2):27-36

1. Introduction

The marbled spinefoot *Siganus rivulatus* (Forsskål and Niebuhr, 1775) is an Indo-Pacific species belonging to the Siganidae family of the order Perciformes that migrated from the Red Sea to the Mediterranean Sea. It has been reported that they are distributed in sea and brackish waters up to a depth of 30 m (Bariche et al., 2004), and that they are not found in deeper than 60 m (Bilecenoğlu and Kaya, 2002; Gurbet and Kara, 2013). They prefer to live in rocky and sheltered habitats surrounded by algae in the school of approximately 50-100 individuals. *S. rivulatus* is an herbivore species that are fed by grazing (Bariche, 2006). Bony rays in the fins are poisonous (Robins et al., 1991) and pose a threat to humans. It has been reported that it is not officially included in commercial fisheries statistics in our country (Bilecenoğlu and Kaya, 2002).

The first record of *S. rivulatus* from the Eastern Mediterranean was notified by Steinitz (1927) (Gurbet and Kara, 2013). The species has been reported to migrate to Eastern Mediterranean coasts along the north and west. On the migration route, the species was the first recorded in İskenderun Bay on the northeastern coast of Turkey in 1942 was reported by Kosswig (Kosswig, 1950). Other records of the species from the Turkish coast between Iskenderun Bay and Anamur were presented by Haas and Steinitz (1947), Ben-Tuvia (1953-1966), Akyüz (1957), Whitehead (1984, 1986), and Gücü et al., (1994). The records of the species from the Southeast and South Aegean in 1987-1990 were reported (Papaconstantinou

2. Material and Methods

In the study, 196 individuals of *S. rivulatus* were caught with a commercial trawl net from Mersin Bay in February 2021. The coordinates of the sampling area are 36 ° 11'26.0 "N 33 ° 48'11.3" E and the sampling station is presented in Figure 1. The sampling depth of the species is 40 m.

The morphometric measurements of each individual were measured with the Insize

1987, 1990). The researchers noticed that the species has high success in establishing a population in the Eastern Mediterranean from Fethiye Bay (Torcu et al., 2001) and Izmir Bay (Gurbet and Kara, 2013) among the other lessepsian species.

Morphometric characters allow taxonomic distinction of the species, determination of growth characteristics, and prediction of population dynamics at a certain location. The length-weight relationship is important in determining the distinction between individuals that make up the population (King, 2007), while the condition factor reflects the productivity of the habitat, determining the suitability of abiotic factors, and revealing the intra and interspecific relationship of the population (Alam et al., 2014; Ujjania et al., 2012; Dan-Kishiya, 2013). Determination of all these parameters is necessary for fisheries management in a region (Abdelhak et al., 2020).

Although studies have been reported on the morphometric measurements of different populations of *S. rivulatus* (Yeldan and Avşar, 2000; Bilecenoğlu and Kaya, 2002; Dulcic and Pallaoro, 2004; Shakman et al., 2008; El-Drawany, 2015; Gabr et al., 2018; Abdelhak et al., 2020; Karakulak et al., 2020; Soykan et al., 2020; Soykan et al., 2021), this study is being presented the morphological features of this species from Mersin Bay.

In this study, some morphometric characteristics, and length-weight relationships of *S. rivulatus* were determined.

electronic caliper with a sensitivity of 0.01 mm and a scale with a precision of 0.1 g. The total length, fork length, standard length, head length, body width, eye diameter, interorbital distance, dorsal fin base length, anal fin base length, pectoral fin length, and caudal peduncle height of each individual were measured.



Figure 1. Study area

The number of dorsal fin rays, anal fin rays, ventral fin rays, and pectoral fin rays was determined as meristic measurements. A linear ($y = ax + b$) regression model was used to determine the equations defining the relationships between morphometric characters and total length or head length. In the equations, 'y' is the dependent variable (morphometric character), 'x' is the independent variable (total length/head length), and 'a' and 'b' are constants. To define these relationships, the model with the highest determination coefficient (r^2) was chosen.

3. Results

In this study, some morphometric characteristics, and length-weight relationships of *S. rivulatus* were determined. Table 1 shows the mean and standard deviations of some morphometric measurements, the percentages of minimum and maximum values of the eye diameter and interorbital

The allometric growth equation ($W = aL^b$) was used to determine the length-weight relationship of the species (Ricker, 1975). Where W is the weight (g), L is the total length (cm), a and b are the growth constants.

Principal Component Analysis (PCA), Inter-cluster Correlation Analysis (ICC), and Univariate Analysis of Variance (ANOVA) were used to measure the multivariate analysis of the individuals. The SPSS, Statistica for Windows Version 20.0, and Excel Windows 2010 package programs were used for analysis.

length of the head length and the other parameters of the total length, and some meristic measurements of *S. rivulatus* (n=196).

Total length 17.87 ± 3.11 cm, standard length 13.88 ± 1.96 cm, fork length 17.06 ± 1.35 cm, head length 3.60 ± 0.76 cm,

eye diameter 1.08 ± 0.23 cm, interorbital distance 1.60 ± 0.34 cm, body width 2.32 ± 0.48 cm, dorsal fin base length 10.45 ± 2.19 cm, anal fin base length 6.26 ± 1.31 cm, pectoral fin length 2.56 ± 0.53 cm and caudal peduncle height 0.78 ± 0.16 cm of fish were measured.

The number of dorsal fin rays (D: I- XII / 10), anal fin rays (A: VII / 9), pectoral fin rays (P: I / 15), and ventral fin rays (V: III / 2) has been determined as the meristic characters of samples.

Table 1. Some morphometric and meristic measurements of *S. rivulatus* sampled from Mersin Bay

Morphometric Measurements (cm)	Mean \pm SD	TL% &* HL% (min-max)
Total length (TL)	17.87 ± 3.11	100
Standart length (SL)	13.88 ± 1.96	77.63
Fork length (FL)	17.06 ± 1.35	95.45
Head length (HL)	3.60 ± 0.76	20.15
Eye diameter (ED)	1.08 ± 0.23	30.21*
Interorbital distance (IOD)	1.60 ± 0.34	44.50*
Body width (BW)	2.32 ± 0.48	12.96
Dorsal fin base length (DFB)	10.45 ± 2.19	58.43
Anal fin base length (AFB)	6.26 ± 1.31	35.04
Pectoral fin length (PF)	2.56 ± 0.53	14.32
Caudal peduncul height (CP)	0.78 ± 0.16	4.33
Meristic Measurements		
Dorsal fin (D) rays	D: I - XII / 10	
Anal fin (A) rays	A: VII / 9	
Pectoral fin (P) rays	P: I / 15	
Ventral fin (V) rays	V: III / 2	

*; indicates HL% min-max ratio; SD indicates the standard deviation

An index was created by determining the percentage of eye diameter and interorbital length to head length and the other morphometric features to the total length ratio of examined in order to prevent the error that may be caused by sexual and age-related changes in the individuals. Table 1 shows the percentage of some morphometric measurements of *S. rivulatus* to the total length/head length.

The correlation coefficients of some morphometric measurements of *S. rivulatus* were presented in Table 2. It was determined that the morphometric measurements of fish showed a positive linear relationship at the level of $p < 0.01$.

The highest correlation coefficients ($r = 0.985$, $p < 0.01$) was found between TL and FL while the lowest ($r = 0.235$, $p < 0.01$) was between PFB and ED ($p < 0.01$). ED showed a weak positive correlation with BW, CP, PFB, and BW with PFB, while other characters showed a stronger positive linear correlation with each other.

The length-weight relationship of *S. rivulatus* was calculated and found as $W = 0.008 \times TL^{3.16}$ ($r^2 = 0.973$). It was determined fish showed positive allometric growth. It was determined fish showed positive allometric growth. The %95 Confidence Interval value of b was found 3.1838 – 3.1362.

Table 2. Correlation coefficients of the morphometric characters of *S. rivulatus*

	TL	SL	FL	W	HL	ED	IOD	BW	DFB	AFB	PFB	CP
TL	1											
SL	0.959**	1										
FL	0.985**	0.958**	1									
W	0.902**	0.908**	0.904**	1								
HL	0.877**	0.870**	0.883**	0.839**	1							
ED	0.490**	0.495**	0.460**	0.468**	0.512**	1						
IOD	0.685**	0.692**	0.686**	0.692**	0.625**	0.509**	1					
BW	0.481**	0.532**	0.513**	0.692**	0.468**	0.245**	0.401**	1				
DFB	0.973**	0.933**	0.970**	0.899**	0.876**	0.464**	0.645**	0.498**	1			
AFB	0.919**	0.887**	0.919**	0.856**	0.796**	0.397**	0.627**	0.523**	0.907**	1		
PFB	0.649**	0.634**	0.662**	0.634**	0.602**	0.235**	0.448**	0.279**	0.620**	0.570**	1	
CP	0.692**	0.679**	0.694**	0.724**	0.704**	0.281**	0.587**	0.438**	0.698**	0.680**	0.527**	1

**Correlation is significant at the level 0.01 (2-tailed), *Correlation is significant at the level 0.05 (2-tailed)

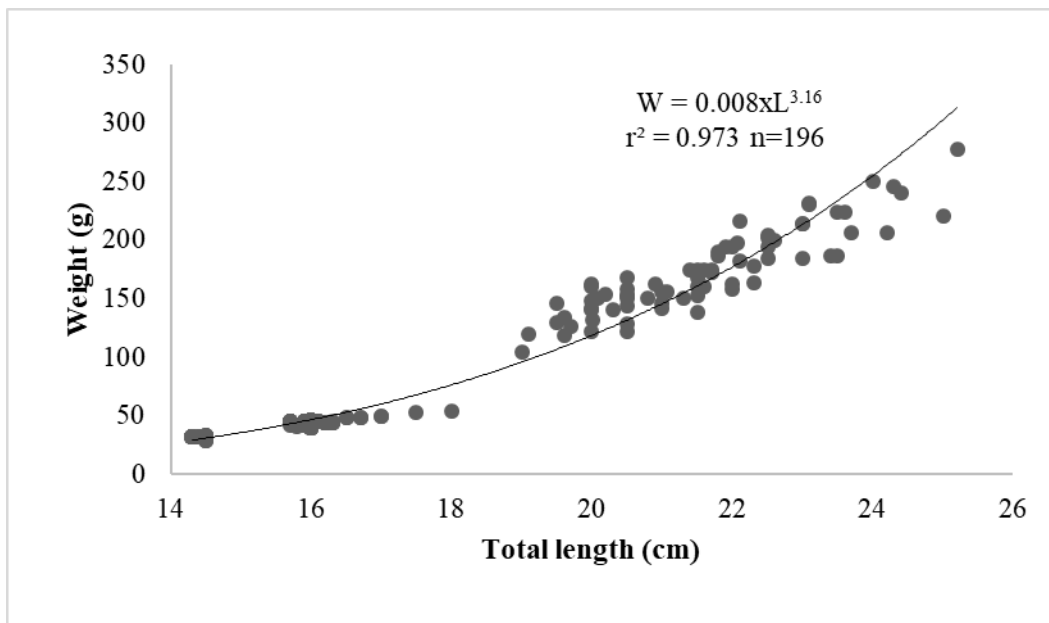


Figure 2. The length-weight relationships of *S. rivulatus* sampled from Mersin Bay

4. Discussion

Lessepsian species are highly influential on Northeast Mediterranean biodiversity and fisheries (Ergüden et al., 2009). Determining the morphometric characteristics of these invasive species may be important in reflecting the status of any more established populations. The morphometric changes that can be determined for the species can give an idea about genetic var-

iations. In this research, some morphometric and meristic characteristics of individuals of *S. rivulatus* were determined and compared with previous research findings (Table 3).

The total length and weight values reported from different locations of *S. rivulatus* are different. Abdelhak et al., (2020) reported that the average total length of

individuals sampled from the Red Sea, Suez Channel, and the Mediterranean were 20.09 cm, 13.64 cm, and 13.31 cm respectively. They also reported that the average weight determined from the Red Sea, Suez Canal, and Mediterranean samples were determined as 106.7, 41.44, and 32.51 g, respectively. [Abdelhak et al., \(2020\)](#) reported that although there are some morphometric differences between the Mediterranean and the Red Sea / Suez Channel populations of *S. rivulatus*, these populations are morphometrically and genetically similar. In previous studies conducted in different locations of the Mediterranean, the total length and weight values of *S. rivulatus* were reported as follows, 21.5 cm and 128.7 g in Antalya Bay ([Bilecenoğlu and Kaya, 2002](#)), 27.1 cm (no weight data) in Gökova Bay ([Soykan et al., 2021](#)), 15.2 cm and 43.45 g in Izmit Bay ([Karakulak et al., 2020](#)) and 11.1 cm (no weight data) in the Adriatic Sea ([Dulcic and Pallaoro, 2004](#)). In this study, the average total length and weight of *S. rivulatus* sampled from Mersin Bay were found as 17.87 cm and 90.73 g, respectively. The highest TL value were noticed from Gökova ([Soykan et al., 2021](#)), Antalya Bay ([Bilecenoğlu and Kaya, 2002](#)) and Red Sea ([Abdelhak et al., 2020](#)). Although our findings were lower than these data, they were higher than the Izmit Bay ([Karakulak et al., 2020](#)), Suez Canal/Mediterranean ([Abdelhak et al., 2020](#)), and Adriatic Sea ([Dulcic and Pallaoro, 2004](#)) findings. This may indicate that *S. rivulatus* can establish anymore population in the Mediterranean Sea.

The comparison of examined morphometric characters with previous studies is presented in Table 3. Although there are differences in morphometric measurements such as total length, body width, dorsal fin base length, and anal fin base length between fish sampled from different locations, there is no distinction between me-

ristic features that were compared to previous findings.

The head length of *S. rivulatus* in our study (3.60 cm) was similar to the Red Sea population (3.80 cm) of *S. rivulatus* ([Abdelhak et al., 2020](#)). Head length was reported as the smallest value in fish from the Adriatic Sea ([Dulcic and Pallaoro, 2004](#)) and the highest value in fish from Gökova Bay ([Soykan et al., 2021](#)). The highest eye diameter was found in fish from the Gökova Bay ([Soykan et al., 2021](#)) and this was followed by our finding. The lowest eye diameter value was reported in Suez Canal/Mediterranean fish ([Abdelhak et al., 2020](#)). Although all morphometric measurements of fish in Gökova Bay were higher than fish in other locations compared in this study, the highest IOD value was found in this study. However, the IOD value of fish in Gökova Bay ([Soykan et al., 2021](#)) and the Red Sea ([Abdelhak et al., 2020](#)) was close to our findings.

The body width of the fish in the present study was the lowest among the other fish compared (Table 3). Dorsal fin ray base length and anal fin ray base length determined in this study have the second highest values after Gökova Bay fish ([Soykan et al., 2021](#)).

The distinction between morphometric measurements may be related to sampling time as well as sex, age, habitat efficiency, and abiotic characteristics of the environment in different populations.

In this study, it was determined that correlation coefficients of the morphometric measurements of *S. rivulatus* showed a positive linear relationship at $p < 0.01$ level ($r^2 = 0.98$ $n = 196$).

Table 4 shows the comparison of the length-weight relationship of *S. rivulatus* determined in this study with previous studies.

Table 3. The comparison of some morphometric and meristic features of *S. rivulatus* with previous studies

MM (cm)	Present study (Mersin Bay)		Abdelhak et al., (2020) (Red Sea ^a , Suez Channels ^b , Mediterranean Sea ^c)		Dulcic and Pallaoro, (2004) (Adriatic Sea)	Karakulak et al., (2020) (İzmit Bay, Marmara Sea)		Soykan et al., (2021) (Gökova Bay, Aegean Sea)
	Mean±SD	TL%	Mean±SD	TL%	Mean	Mean	TL% *HL%	Mean
TL	17.87±3.11	100	20.09±2.75 ^a 13.64±3.13 ^b 13.31±2.72 ^c	100	11.1	15.1	100	27.1
SL	13.88±1.96	77.63	15.83±2.15 ^a 10.77±2.46 ^b 10.47±2.09 ^c	78.79 ^a 78.94 ^b 78.68 ^c	9.2	12.8	84.8	21.9
FL	17.06±1.35	95.45	-	-				25.2
HL	3.60±0.76	20.15	3.80±0.49 ^a 2.68±0.51 ^b 2.65±0.49 ^c	18.92 ^a 19.68 ^b 19.87 ^c	2.3	3.0	19.9	4.7
ED	1.08±0.23	30.21*	0.97±0.11 ^a 0.76±0.12 ^b 0.73±0.14 ^c	-	0.8	1.0	33.3*	1.4
IOD	1.60±0.34	44.50*	1.41±0.23 ^a 0.96±0.22 ^b 0.86±0.18 ^c	-	0.7	1.1	36.7*	1.5
BW	2.32±0.48	12.96	6.03±0.89 ^a 4.12±0.97 ^b 3.80±0.77 ^c	-	3.1	4.7	31.1	9.5
DFB	10.45±2.19	58.43	-	-	6.1	8.8	58.3	13.2
AFB	6.26±1.31	35.04	-	-	3.6	5.3	35.1	9.6
PF	2.56±0.53	14.32	-	-	1.8	2.3	15.2	-
CPH	0.78±0.16	4.33	-	-	-	0.8	5.3	1.2
Meristic measurements								
DF	D: I- XII / 10		D: XIV+10		D: XIII- XIV / 10	XIII + 10		-
AF	A: VII / 9		A: VII+9		A: VII / 9	VII + 9		-
PF	P: I / 15		P: 15-16		P: 16-17	-		-
VF	V: III / 2		V: I+3+I		V: I+3+I	V: I+3+1		-

The findings were reported by [Shakman et al., \(2008\)](#) on the Libyan coast ($b=2.82$) and by [Abdelhak et al., \(2020\)](#) in the Mediterranean Sea ($b=2.90$) were not similar and the species showed negative allometric growth and also some studies reported isometry [Gabr et al., 2018](#) (Coast of Jeddah); [El-Drawany, 2015](#) (Bitter Lakes,

Egypt); [Abdelhak et al., 2020](#) (Suez Channel), while the other studies ([Bilecenoğlu and Kaya 2002](#); [Abdelhak et al., 2020](#); [Soykan et al., 2020](#)) and present study showed positive allometric growth (Table 4).

Table 4. The comparison of *S. rivulatus* length-weight relationship with previous studies

Locality	LW Equations	References
Red Sea Coast of Jeddah, Saudi Arabia	$W = 0.011 L^{3.06}$	Gabr et al., 2018
Bitter Lakes in Egypt	$W=0.00952L^{3.042}$	El-Drawany, 2015
Gulf of Antalya	$W=0.00642L^{3.221}$ (female) $W=0.00792L^{3.135}$ (male)	Bilecenoğlu and Kaya, 2002
Red Sea Suez Channel Mediterranean Sea	$W=0.0112L^{3.034}$ $W=0.0085L^{3.182}$ $W=0.0154L^{2.909}$	Abdelhak et al., 2020
Libyan Coast	$W= 0.233L^{2.820}$	Shakman et al., 2008
Gökova Bay, Aegean Sea	$W= 0.00941L^{3.082}$	Soykan et al., 2020
Mersin Bay	$W= 0.008L^{3.16}$	Present Study

5. Conclusion

S. rivulatus is one of the economically important lesepsian species and it is known that this species has established successful populations on the migration route it follows in the Mediterranean. Siganids are found in the Mediterranean, where there are few herbivorous fish species; It has contributed positively to the normalization of the food web by recycling the algae and providing food for the groupers.

The morphometric characteristics of the species have been tried to be revealed within the previous research in different regions from the Red Sea, to the middle Mediterranean. In this research, morphometric characters of this species were presented for the first time from Mersin Bay. The findings obtained will contribute to the next research and fisheries management.

Conflict of Interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

References

- Abdelhak, E.M., El Ganainy, A.A., Madkour, F.F., El-Regal, M.A.A, Ahmed, M.I. (2020) Comparative Study on Morphometric Relationships and Condition Factor of *Siganus rivulatus* Inhabits the Red Sea, Suez Canal and the Mediterranean Sea, Egypt. Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries, 24(7): 955- 972.
- Alam, M M, Rahman, M T, Parween, S (2014) Morphometric Characters and Condition Factors of Five Freshwater Fishes from Pagla River of Bangladesh. International Journal of Aquatic Biology, 2(1):14-19.
- Akyüz, E. (1957) Observations on the Iskenderun red mullet (*Mullus barbatus*) and its environment. GFCM Proceedings and Technical Papers, 4(38): 305-326.
- Avşar, D. (2005) Balıkçılık Biyolojisi ve Popülasyon Dinamiği. Nobel Kitabevi, Adana, ISBN: 975-8561-44-8.
- Bariche, M. (2006) Diet of the Lessepsian Fishes, *Siganus rivulatus* and *S. luridus* (Siganidae) in the Eastern Mediterranean: bibliographic Analysis. Cybium, 30(1): 41-49.

- Bariche, M., Letourneur, Y., Harmelin-Vivien, M. (2004) Lübnan Kıyılarında (Doğu Akdeniz) Yerli ve Lessepsiyen Otçul Balıkların Zamansal Dalgalanmaları ve Yerleşim Patternleri. *Environmental Biology, Balıklar*, 70: 81-90.
- Ben-Tuvia, A. (1953) Mediterranean fishes of Israel. *Bulletin of Sea Fisheries Research Station, Haifa*, 1-40.
- Ben-Tuvia, A. (1966) Red Sea Fishes Recently Found in the Mediterranean. *Copeia*, 2, 254-275.
- Bilecenoğlu, M., Kaya, M. (2002) Growth of Marbled Spinefoot *Siganus rivulatus* Forskall, 1775 (Teleostei: Siganidae) Introduced to Antalya Bay, Eastern Mediterranean Sea (Turkey). *Fisheries Research*, 54: 279-285.
- Dan-Kishiya, A.S. (2013) Length-Weight Relationship and Condition Factor of Five Fish Species from a Tropical Water Supply Reservoir in Abuja, Nigeria. *American Journal of Research Communication*, 1(9): 175-187.
- Dulcic, J., Pallaoro, A. (2004) First Record of the Marbled Spinefoot *Siganus rivulatus* (Pisces: Siganidae) in the Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84: 1087-1088.
- El-Drawany, M. (2015) On the Biology of *Siganus rivulatus* Inhabits Bitter Lakes in Egypt. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 6(6): 342. DOI:10.4172/2155-9546.1000342.
- Gabr, M.H., Bakaili, A.S., Mal, A.O. (2018) Growth, Mortality and Yield per Recruit of the Rabbitfish *Siganus rivulatus* (Forsskål 1775) in the Red Sea Coast of Jeddah, Saudi Arabia. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 6: 87-96.
- Gurbet, R., Kara, A. (2013) Record of Lessepsian Marbled Spinefoot *Siganus rivulatus* Forsskal and Niebuhr, 1775 from the Northern Aegean Sea (Izmir Bay, Turkey). *Journal of Applied Ichthyology*, 29, 463-464.
- Gücü, A.C., Bingel, F., Avsar, D., Uysal, N. (1994) Distribution and Occurrence of Red Sea Fish at the Turkish Mediterranean Coast – Northern Cilician Basin. *Acta Adriatica*, 34:103-113.
- Haas, G., Stelnitz, H. (1947) Erythrean Fishes on the Mediterranean Coast of Palestine. *Nature*, 160(4053): 28.
- Karakulak, F.S., Yıldız, T., Uzer, U., Oray, I.K. (2020) First Record of the Lessepsian Fish *Siganus rivulatus* (Forsskål & Niebuhr, 1775) in the Sea of Marmara (Izmit Bay, Turkey). *Journal of Applied Ichthyology*, 36: 952-954.
- King, M. (2007) *Fisheries Biology, Assessment and Management*. 2nd Edition. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1-381. DOI 10.1007/s10499-007-9148-4.
- Kosswig, C. (1950) Erythraische fische im Mittelmeer und an der Grenze der Agais. *Syllegonema Biologica, Festschrift Kleinschmidt. Akademie, Leipzig*. 203-212.
- Papaconstantinou, C. (1987) Distribution of the Lessepsian fish Migrants in the Aegean Sea. *Biologia Gallo-Hellenica*, 13: 15-20.
- Papaconstantinou, C. (1990) The Spreading of Lessepsian fish Migrants into the Aegean Sea (Greece). *Scientia Marina*, 54: 313-316.
- Ricker, W.E. (1975) Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin - Fisheries Research Board of Canada*, 191: 382.
- Robins, C.R., Bailey, R.M., Bond, C.E., Brooker, J.R., Lachner, E.A., Lea, R.N., Scott, W.B. (1991) World fishes important to North Americans. Exclusive of species from the continental waters of the United States and Canada. *American Fisheries Society Special Publication* 21: 243 p.

- Shakman, E.A, Winkler, H., Oeberst, R., Kinzelbach, R. (2008) Morphometry, Age and Growth of *Siganus luridus* Rüppell, 1828 and *Siganus rivulatus* Forsskal, 1775 (Siganidae) in the Central Mediterranean (Libyan coast). *Revista de Biología Marina Oceanografía*, 43(3): 521-529.
- Soykan, O., Gülşahin, A., Cerim, H. (2020) Contribution to Some Biological Aspects of Invasive Marbled Spinefoot (*Siganus rivulatus*, Forsskal 1775) from the Turkish Coast of Southern Aegean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1-8.
<https://doi.org/10.1017/S0025315420000351>
- Soykan, O., Gülşahin, A., Cerim, H. (2021) Maximum Size of Marbled Spinefoot (*Siganus rivulatus* Forsskal & Niebuhr, 1775) for Aegean Sea. *Aquatic Sciences and Engineering*, 36(1): 42-45.
- Steinitz, W. (1927) Beiträge zur Kenntnis der Küstenfauna Palaestinas. I. *Publicazioni della Stazione Zoologica di Napoli*. 8: 311-353.
- Torcu, H., Aka, Z., Isbilir, A. (2001) An investigation on Fishes of Turkish Republic of Northern Cyprus. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 25: 155-159.
- Ujjania, N.C., Kohli, M.P.S., Sharma, L.L. (2012) Length-Weight Relationship and Condition Factors of Indian Major Carps (*Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*) in Mahi Bajaj Sagar. *India, Research Journal of Biology*, 2(1): 30-36.
- Whitehead, P.J.P., Bauchotj, M.L., Hureau, C., Nielsen, J., Tortonese, E. (1984) *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO ed., Vol. I, II, III. 1473 pp.
- Whitehead, P.J.P., Bauchotj, M.L., Hureau, C., Nielsen, J., Tortonese, E. (1986) *Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean*. UNESCO ed., Vol. I, II, III. 1473 pp.
- Woodland, D.J. (1983) Zoogeography of the Siganidae: an Interpretation of Distribution and Richness Patterns. *Bulletin of Marine Science*. 33: 713-717.
- Yeldan, H., Avşar, D. (2000) A Preliminary Study on the Reproduction of the Rabbitfish (*Siganus rivulatus* (Forsskal, 1775)) in the Northeastern Mediterranean. *Turkish Journal of Zoology*, 24: 173-182.

Effects of Acadian Marine Plant Extract Powder (AMPEP) and ammonium phosphate as nutrient enrichment on the ice-ice disease occurrence and growth performance of seaweed *Kappaphycus striatus*

Albaris B. Tahiluddin* , Abdurazis J. Andon , Mardrina A. Burahim 

College of Fisheries, Mindanao State University-Tawi-Tawi College of Technology and Oceanography, Sanga-Sanga, Bongao, 7500 Tawi-Tawi, Philippines

*Corresponding author e-mail: albarist20@gmail.com

ABSTRACT

Due to the frequent ice-ice disease outbreak and stagnant growth of *Kappaphycus* species, farmers and researchers have been considering nutrient enrichment as one way of easing these issues to increase production to meet the growing demand for carrageenan in the world market. In this study, we determined the effects of Acadian Marine Plant Extract Powder (AMPEP) and ammonium phosphate as nutrient enrichment on the ice-ice disease occurrence and growth performance of seaweed *Kappaphycus striatus*. The study used three treatments: T₁ group = AMPEP at 0.01 g L⁻¹, T₂ group = ammonium phosphate [(NH₄)₃PO₄], 16-20-0 at 8.82 g L⁻¹, and T₃ group = control. Nutrient-enriched seaweed *K. striatus* was planted using the fixed-off bottom method for 45 days. Findings revealed that the growth performance of the T₂ group (6.1±0.14 % day⁻¹) was significantly higher (p<0.05) after 30 days compared to the T₁ group (5.56±0.16 % day⁻¹) and control group (5.45±0.17 % day⁻¹). In terms of ice-ice occurrence, the T₁ group (0.57±0 %) was significantly lower after 45 days of culture compared to the control group (59.67±27.32 %) but not significant with the T₂ group (23.22±12.83 %). Our study suggests that AMPEP could effectively reduce ice-ice disease occurrence, while ammonium phosphate could enhance the growth performance of *K. striatus*.

KEYWORDS: AMPEP, *Kappaphycus*, ice-ice disease, inorganic fertilizer, biofertilizer, biostimulant

How to cite this article: Tahiluddin, A.B., Andon, A.J., Burahim, M.A. (2022) Effects of Acadian Marine Plant Extract Powder (AMPEP) and ammonium phosphate as nutrient enrichment on the ice-ice disease occurrence and growth performance of seaweed *Kappaphycus striatus*. *MedFAR.*, 5(2):37-46.

1. Introduction

Eucheumatoid species, such as *Euचेuma* spp. and *Kappaphycus* spp., are among the important commercial seaweeds farmed globally, especially in tropical regions. Their importance is due to the high content of carrageenan – a phycocolloid that has a vast array of applications in food and non-food industries (Tahiluddin and Terzi, 2021). Roughly 11 million tons, or 34% of the total aquatic plants' world production, came from eucheumatoid production in 2018 (FAO, 2020). About 5% of these aquatic plants' production is mainly contributed by *Kappaphycus* species (FAO, 2020). *Kappaphycus striatus* is one of the popularly cultivated eucheumatoid species globally (Tahiluddin et al., 2022a). However, numerous factors have been determined to affect the sustainability of eucheumatoid aquaculture. Among these are stagnant growth due to less productive farms attributed to nutrient depletion as well as the frequent outbreak of ice-ice disease occurrence (Luhan et al., 2015; Tahiluddin and Terzi, 2021; Tahiluddin et al., 2022b). Hence, farmers in the southern Philippines have been incorporating inorganic nutrient enrichment to help ease these issues (Tahiluddin et al., 2022b).

Nutrient enrichment is usually applied to *Kappaphycus* micropropagation under laboratory conditions, either using biofertilizer/biostimulant or inorganic fertilizer (Hurtado et al., 2009; Luhan and Mateo, 2017). In the

natural environment, *Kappaphycus* cultivation typically relies on the natural fertility of the seawater (Luhan et al., 2015). With the aim of skyrocketing the production of *Kappaphycus* to meet the growing demand, the application of biofertilizer/biostimulant, like AMPEP (Borlongan et al., 2011; Hurtado et al., 2012; Loureiro et al., 2012; Hurtado and Critchley, 2013; Loureiro et al., 2017; Tibubos et al., 2017; Hurtado and Critchley, 2018; Ali et al., 2018a; Ali et al., 2018b) and seaweed liquid extract (Tahiluddin et al., 2022a), as well as inorganic fertilizers, such as urea and sodium nitrate (Luhan et al., 2015; Sarri et al., 2022) and ammonium phosphate (Tahiluddin et al., 2021a; Tahiluddin et al., 2021b; Tahiluddin et al., 2022b), have been the focus of the previous and recent studies, which provided promising results in increasing the growth performance and reducing the occurrence of ice-ice disease and epiphytes. Although inorganic fertilizers facilitate easy access due to their availability as commonly used fertilizers for agricultural plants, their uses and practices may threaten the natural environment and compromise the carrageenan quality of seaweeds (Robles, 2020; Tahiluddin et al., 2022b). In this study, we determined the effects of biofertilizer/biostimulant (AMPEP) and inorganic fertilizer (ammonium phosphate, 16-20-0) on the ice-ice disease occurrence and growth performance of *Kappaphycus striatus*.

2. Material and Methods

Study Site, Duration and Seedlings

This study was conducted on the coastal water of Pasiagan, Bongao, Tawi-Tawi, Philippines (Figure 1), with a duration of 45 days from January 14 to February 27, 2019. The healthy and untreated seedlings of *K. striatus* were obtained from the farmer at the study site.

Transporting and Conditioning of Seedlings

The seedlings were placed inside the styrofoam by adding the *Sargassum* sp. at the bottom and top to avoid the stress of seaweeds during transportation. Upon arrival at the farm site, seedlings inside the styrofoam were submerged gradually and planted for three days for acclimatization.

$$\mu = \frac{\ln(W_f) - \ln(W_i)}{\text{Days of culture}} \times 100$$

Where: W_f = final weigh
 W_i = initial weight
 μ = specific growth rate

Ice-ice Disease Occurrence Sampling

A sampling of ice-ice disease occurrence was done every 15 days of culture. This was done through visual inspection.

Infected bundles were counted, and the percent ice-ice disease occurrence was calculated using the formula below (Largo et al., 1995).

$$\text{Ice-ice \% occurrence} = \frac{\text{Number of infected bunches}}{\text{total number of bunches}} \times 100$$

Monitoring of Water Parameters and Maintenance

On a weekly basis, the farm area was visited to maintain the farm's cleanliness. This was done by removing all attached silt, epiphytes, and predators. Water parameters such as temperature and salinity were determined every seven days using a thermometer and refractometer, respectively. Water current, pH, and depth were measured using an improvised drogue, pH meter (Smart Sensor), and calibrated rope, respectively.

Data Analysis

One-way analysis of variance (ANOVA) was used to test the significance among treatments in terms of growth performance and ice-ice disease occurrence using IBM SPSS version 20. Post Hoc (Duncan) was used to rank the means of the treatments.

3. Results

On day 15, T₁ group (AMPEP), T₂ group (16-20-0), and T₃ group (Control) obtained specific growth rates (SGR) of 5.31±0.28 % days⁻¹, 5.82±0.29 % day⁻¹, and 5.62±0.22 % day⁻¹, respectively (Figure 2). One-way ANOVA revealed that there was no significant difference ($p > 0.05$) among the treatments. On day 30, T₁, T₂, and T₃ groups gained SGRs of 5.56±0.16 % day⁻¹, 6.1±0.14 % day⁻¹, and 5.45±0.17 % day⁻¹, respectively. One-way ANOVA showed that the T₂ group was significantly higher ($p < 0.05$) than T₁ and T₃ groups. However, on day 45, only T₁ group subsamples remained with an SGR of 4.27±0.01 % day⁻¹. Subsamples of T₂ and T₃ groups were

washed out due to an extensive ice-ice disease outbreak.

The mean weight of *K. striatus* is shown in Figure 3. At 15 days of culture, there was no significant difference ($p > 0.05$) among the treatments with mean weights of 112±4.23 g (T₁ group), 121±4.95 g (T₂ group), and 118±3.64 g (T₃ group). On day 30, T₁, T₂, and T₃ groups obtained mean weights of 269±12.95 g, 320±13.31 g, and 261±12.04 g, respectively. One-way ANOVA revealed that the T₂ group was significantly higher ($p < 0.05$) than T₁ and T₃ groups. At 45 days of culture, however, only T₁ group subsamples were left with a mean weight of 342±18.46 g.

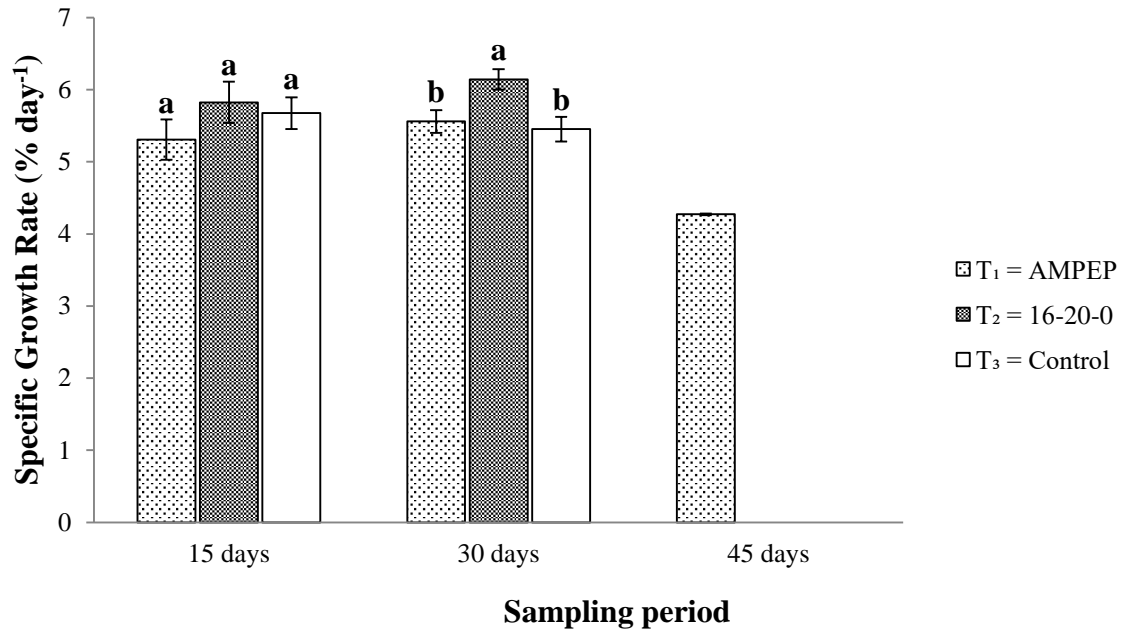


Figure 2. Specific growth rate (% day⁻¹) of *Kappaphycus striatus* in every sampling. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$. Errors bars in SEM (standard error of the mean), $n = 14-15$.

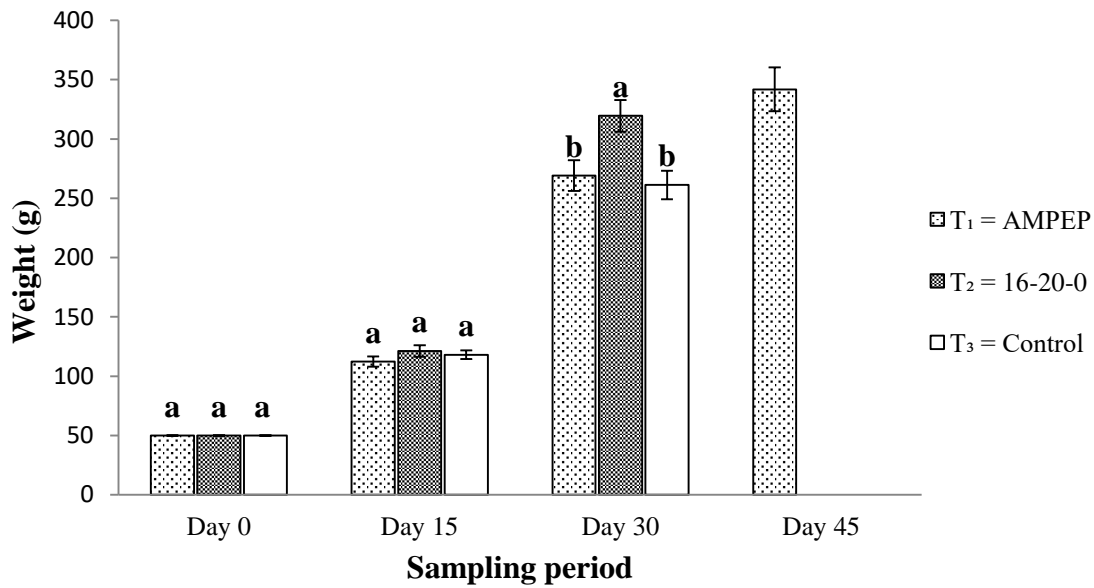


Figure 3. Mean weight of *Kappaphycus striatus* in every sampling. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$. Errors bars in SEM (standard error of the mean), $n = 14-15$.

The ice-ice disease occurrence of cultivated nutrient-enriched *K. striatus* was not observed after 15 days of culture. However, on day 30, the ice-ice disease appeared, and the T₂ group (5±0.36 %) recorded the lowest ice-ice disease than the T₁ group (12±0.77 %) and the T₃ group (22±0.74 %), but no

significant difference ($p > 0.05$) among the treatments were detected. On day 45, the T₁ group (0.57±0 %) was significantly ($p < 0.05$) lower than the T₃ group (59.67±27.32 %) but not significant as the T₂ group (23.22±12.83 %) (Figure 4).

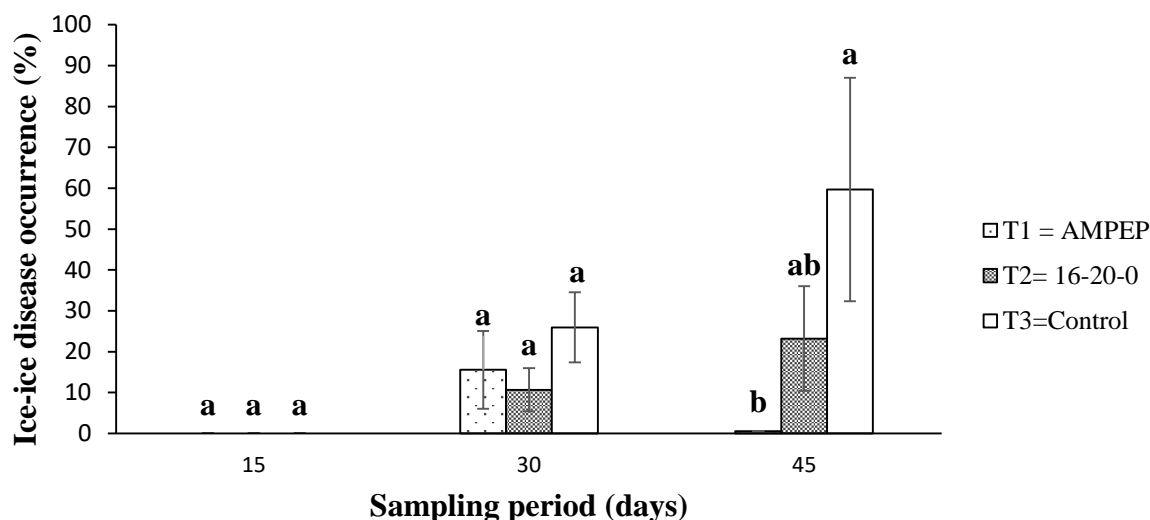


Figure 4. Ice-ice disease occurrence (%) of *Kappaphycus striatus* in every sampling. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$. Errors bars in SEM (standard error of the mean), $n = 2-20$.

Physico-chemical Parameters of the *K. striatus* Farm

The temperature of the farm water varied during the culture period ranging from 26 ± 0 °C to 31 ± 0.03 °C. The salinity fluctuated throughout the sampling period ranging from 32 ± 0 to 35 ± 0.03 ‰. pH ranged from 8.18 ± 0.09 to 8.26 ± 0.01 . Water current velocity varied depending on depth and tide,

ranging from 0.15 ± 0.23 m s⁻¹ to 3.92 ± 1.45 m s⁻¹. The water depth of the farm ranged from 7.67 ± 0.06 cm during low tide to 141 ± 1.49 cm during high tide. These indicate that all water parameters were within the optimum condition for cultured seaweed.

4. Discussion

Growth of *K. striatus* enriched with inorganic fertilizer (16-20-0, N P K) was highest (5.82 ± 0.29 % day⁻¹) at 30 days of the culture. The concentration of inorganic fertilizer (8.82 g L⁻¹) was higher than the biofertilizer/biostimulant (0.1 g L⁻¹). A similar study revealed that inorganic fertilizer (16-20-0) with a concentration of 8.82 g L⁻¹ was effective in increasing the growth rate (4.5 % day⁻¹) after 28 days and consistently obtained a higher growth rate up to 49 days (Tahiluddin et al., 2022b). Ammonium phosphate (16-20-0) at a concentration of 9 g L⁻¹, when enriched to *K. striatus*, significantly improved the total nitrogen content (Tahiluddin et al., 2021); thereby, when planted, it provides additional nutrients es-

sential for increasing the growth of seaweed. In another study, the 12 hours of immersion of *K. alvarezii* in 0.01 g L⁻¹ sodium nitrate resulted in a significant specific growth rate (2.34 % day⁻¹) cultured in a grow-out cage for 45 days (Luhan et al., 2015).

Biofertilizer/biostimulant (AMPEP) with a concentration of 0.1 g L⁻¹ after 15-30 days of farming did not affect the growth of *K. striatus* but remained higher in the number of bunches after 45 days, with an SGR of 4.27 ± 0.01 % day⁻¹. In the study of Hurtado et al. (2012), they found out that the AMPEP with a concentration of 1.0 g L⁻¹ dipped for 60 minutes obtained a higher growth rate (7.7 ± 0 % day⁻¹) in *K. alvarezii* after 45 days. Similarly, Loureiro et al.

(2013) obtained a positive result on the growth rate (7.3 ± 1.7 % day⁻¹) of *K. alvarezii* after 45 days of culture using AMPEP. Furthermore, *K. alvarezii* and *K. striatus* in a tank culture system enriched with AMPEP resulted in a significant growth rate (2.0 ± 0.03 % day⁻¹) after 40 days of culture (Zuldin and Shapawi, 2015). Borlongan et al. (2011) used AMPEP with a concentration of 0.1 g L⁻¹ dipped for 30 minutes and gained a significant growth rate of 1.3-4.1 % day⁻¹ in *K. alvarezii* after 45 days.

Ice-ice disease in the *Kappaphycus* farms has been attributed to changes in water parameters, such as temperature, light intensity, salinity, and/or the presence of opportunistic marine-derived fungi and marine bacteria (Tahiluddin and Terzi, 2021a; Tahiluddin and Terzi, 2021b; Bermil et al., 2022). In the Philippines, the ice-ice disease is widespread in eucheumatoid farms (Faisan et al., 2021). In Tawi-Tawi, the ice-ice disease is a lingering issue in *Kappaphycus* farms, and nutrient enrichment using inorganic fertilizers is an emerging treatment

5. Conclusion

The incorporation of nutrient enrichment in the farming of red seaweed *Kappaphycus striatus* renders an improved growth for seaweed enriched with inorganic fertilizer (ammonium phosphate, 16-20-0) and reduced ice-ice disease occurrence for sea-

weed enriched with biofertilizer /biostimulant (AMPEP). Further studies need to be evaluated using different concentrations, soaking time, species, farm areas, and duration. Carrageenan quality also needs to be determined using these fertilizers.

for this malaise (Tahiluddin et al., 2022b). In this study, biofertilizer /biostimulant (AMPEP) as nutrient enrichment for *K. striatus* was determined as effective in reducing the ice-ice disease occurrence after 45 days. Loureiro et al. (2012) reported that AMPEP could serve as protection to *K. alvarezii* from the ice-ice and epiphyte *Nesosiphonia* sp. (now *Melanothamnus* sp.) in *Kappaphycus* varieties, which has a “vaccine-like effect.” Similarly, the percentage of ice-ice disease was significantly lower (28%) in AMPEP-treated *K. striatus* compared with the control (45%) after 45 days (Illud, 2020). It is thought that the mode of action of AMPEP’s efficacy in ameliorating damaging disease outbreak outcomes is via eliciting alga’s natural defense mechanism against pathogenic microorganisms (Hurtado and Critchley, 2013; Loureiro et al., 2017).

weed enriched with biofertilizer /biostimulant (AMPEP). Further studies need to be evaluated using different concentrations, soaking time, species, farm areas, and duration. Carrageenan quality also needs to be determined using these fertilizers.

Acknowledgments

The authors are grateful to Ainulyakin H. Imlani and Gerly-ayn J. Tupas for their comments and suggestions.

References

- Ali, M.K.M., Yasir, S.M., Critchley, A.T., Hurtado, A.Q. (2018) Impacts of *Ascophyllum* marine plant extract powder (AMPEP) on the growth, incidence of the endophyte *Neosiphonia apiculata* and associated carrageenan quality of three commercial cultivars of *Kappaphycus*. *Journal of Applied Phycology*, 30(2): 1185-1195.
- Ali, M.M., Sani, M.Z.B., Hi, K.K., Yasir, S.M., Critchley, A.T., Hurtado, A.Q. (2018) The comparative efficiency of a brown algal-derived biostimulant extract (AMPEP), with and without supplemented PGRs: the induction of direct, axis shoots as applied to the propagation of vegetative seedlings for the successful mass cultivation of three commercial strains of *Kappaphycus* in Sabah, Malaysia. *Journal of Applied Phycology*, 30(3): 1913-1919.
- Bermil, A.B., Hamisain, J.B.D., Tahiluddin, A.B., Jumdain, R.T., Toring-Farquerbao, M.L.B. (2022) Abundance of Marine-derived Fungi in Nutrient-enriched *Kappaphycus* Species. *Journal of Biometry Studies*, 2(1): 1-6.
<https://doi.org/10.29329/JofBS.2022.444.01>
- Borlongan, I.A.G., Tibubos, K.R., Yunque, D.A.T., Hurtado, A.Q., Critchley, A.T. (2011) Impact of AMPEP on the growth and occurrence of epiphytic *Neosiphonia* infestation on two varieties of commercially cultivated *Kappaphycus alvarezii* grown at different depths in the Philippines. *Journal of Applied Phycology*, 23(3): 615-621.
- Faisan, J.P., Luhan, M., Rovilla, J., Sibonga, R.C., Mateo, J.P., Ferriols, V.M.E.N., Hurtado, A.Q. (2021) Preliminary survey of pests and diseases of eucheumatoid seaweed farms in the Philippines. *Journal of Applied Phycology*, 33(4): 2391-2405.
- Hurtado, A.Q., Critchley, A.T. (2013) Impact of Acadian marine plant extract powder (AMPEP) in *Kappaphycus* production. *Malaysian Journal of Science*, 32: 239-252.
- Hurtado, A.Q., Critchley, A.T. (2018) A review of multiple biostimulant and bioeffector benefits of AMPEP, an extract of the brown alga *Ascophyllum nodosum*, as applied to the enhanced cultivation and micropropagation of the commercially important red algal carrageenophyte *Kappaphycus alvarezii* and its selected cultivars. *Journal of Applied Phycology*, 30(5): 2859-2873.
- Hurtado, A.Q., Joe, M., Sanares, R.C., Fan, D., Prithiviraj, B., Critchley, A.T. (2012) Investigation of the application of Acadian Marine Plant Extract Powder (AMPEP) to enhance the growth, phenolic content, free radical scavenging, and iron chelating activities of *Kappaphycus* Doty (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of applied phycology*, 24(3): 601-611.
- Hurtado, A.Q., Joe, M., Sanares, R.C., Fan, D., Prithiviraj, B., Critchley, A.T. (2012) Investigation of the application of Acadian Marine Plant Extract Powder (AMPEP) to enhance the growth, phenolic content, free radical scavenging, and iron chelating activities of *Kappaphycus* Doty (Solieriaceae, Gigartinales, Rhodophyta). *Journal of applied phycology*, 24(3):601-611.
- Hurtado, A.Q., Yunque, D.A., Tibubos, K., Critchley, A.T. (2009) Use of Acadian marine plant extract powder from *Ascophyllum nodosum* in tissue culture of *Kappaphycus* varieties. *Journal of Applied Phycology*, 21(6): 633-639.

- Illud, H. (2020) Effects of organic fertilizers on the growth performance, “ice-ice” disease occurrence and carrageenan quality of farmed seaweed *Kappaphycus striatus* (F. Schmitz) Doty Ex. P.C. Silva. International Journal of Mechanical and Production Engineering Research and Development, 10(3): 12313-12330.
- Loureiro, R.R., Hurtado, A.Q., Critchley, A.T. (2017) Impacts of AMPEP on Epiphytes and Diseases in *Kappaphycus* and *Euclima* Cultivation. In: Hurtado, A., Critchley, A., Neish, I. (eds) Tropical Seaweed Farming Trends, Problems and Opportunities. Developments in Applied Phycology, vol 9. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-63498-2_6
- Loureiro, R.R., Reis, R.P., Berrogain, F.D., Critchley, A.T. (2012) Extract powder from the brown alga *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis (AMPEP): a “vaccine-like” effect on *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex PC Silva. Journal of Applied Phycology, 24(3): 427-432.
- Luhan, M.R.J., Mateo, J.P. (2017) Clonal production of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in vitro. Journal of Applied Phycology, 29(5), 2339-2344.
- Luhan, M.R.J., Avañcena, S.S., Mateo, J.P. (2015) Effect of short-term immersion of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in high nitrogen on the growth, nitrogen assimilation, carrageenan quality, and occurrence of “ice-ice” disease. Journal of Applied Phycology, 27(2): 917-922.
- Robles, R.J.F. (2020) Effects of different concentrations of ammonium phosphate on the yield and quality of carrageenan, *Kappaphycus striatus* (Schmitz) Doty ex Silva. Journal of Fisheries, Livestock and Veterinary Science, 1(1): 1-9.
- Sarri, J., Abdulmutalib, Y., Tilka, M.M., Terzi, E., Tahiluddin, A. (2022) Effects of inorganic nutrient enrichment on the carrageenan yield, growth, and ice-ice disease occurrence of red alga *Kappaphycus striatus*. Aquatic Research, 5 (2), 99-109.
- Tahiluddin, A.B., Diciano, E.J., Robles, R.J.F., Akrim, J.P. (2021a) Influence of different concentrations of ammonium phosphate on nitrogen assimilation of red seaweed *Kappaphycus striatus*. Journal of Biometry Studies, 1(2): 39-44. <https://doi.org/10.29329/JofBS.2021.349.01>
- Tahiluddin, A.B., Nuñal, S.N., Luhan, M.R.J., Santander-de Leon, S.M.S. (2021b) *Vibrio* and heterotrophic marine bacteria composition and abundance in nutrient-enriched *Kappaphycus striatus*. Philippine Journal of Science, 150 (6B), 1549-1761.
- Tahiluddin, A.B., Terzi, E. (2021a) Ice-ice disease in commercially cultivated seaweeds *Kappaphycus* spp. and *Euclima* spp.: A review on the causes, occurrence, and control measures. Marine Science and Technology Bulletin, 10(3): 234-243. <https://doi.org/10.33714/masteb.917788>
- Tahiluddin, A.B., Terzi, E. (2021b) An Overview of Fisheries and Aquaculture in the Philippines. Journal of Anatolian Environmental and Animal Science, 6(4):475-486.
- Tahiluddin, A.B., Irin, S.S.H., Jumadil, K.S., Muddihil, R.S., Terzi, E. (2022a) Use of brown seaweed extracts as bio-fertilizers and their effects on the carrageenan yield, ice-ice disease occurrence, and growth rate of the red seaweed *Kappaphycus striatus*. Yuzuncu Yil University Journal of Agricultural Sciences, 32 (2): 436-447.

- Tahiluddin, A.B., Nuñal, S.N., Santander–de Leon, S.M.S. (2022b) Inorganic nutrient enrichment of seaweed *Kappaphycus*: Farmers' practices and effects on growth and ice-ice disease occurrence. *Regional Studies in Marine Science*, 55: 102593. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2022.102593>
- Tibubos, K.R., Hurtado, A.Q., Critchley, A.T. (2017) Direct formation of axes in new plantlets of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty, as influenced by the use of AMPEP K+, spindle inhibitors, and plant growth hormones. *Journal of Applied Phycology*, 29(5): 2345-2349.
- Zuldin, W.H., Shapawi, R. (2015) Performance of red seaweed (*Kappaphycus* sp.) cultivated using tank culture system. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(1): 1.

Growth and Survival Rates and Feed Utilization of Orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* Cultured at Different Stocking Densities in Floating Net Cage

Ainulyakin H. Imlani , Albaris B. Tahiluddin* , Jurmin H. Sarri , Morsid H. Imlani 

College of Fisheries, Mindanao State University-Tawi-Tawi College of Technology and Oceanography, Sanga-Sanga, Bongao, Tawi-Tawi 7500 Philippines

*Corresponding author e-mail: albarist20@gmail.com

ABSTRACT

Epinephelus coioides, commonly known as orange-spotted grouper, has potential aquaculture prospects due to its scarcity in the wild and marketability in semi-tropical and tropical regions. A floating net cage system has been demonstrated to be a technically and commercially feasible method of raising fish, allowing for a much higher stocked density of fish. In this study, orange-spotted grouper (*E. coioides*) was cultivated in a floating net cage fed with trash fish (*Decapterus* sp. and *Sardinella* sp.) to determine the effect of stocking density on survival rate (SR) and specific growth rate (SGR). In addition, feed conversion ratio (FCR) and feed intake (FI) were also investigated. Three stocking densities: 20 fish/m³, 30 fish/m³, and 40 fish/m³, were used in the study. Results showed that *E. coioides* cultured at a stocking density of 20 fish/m³ in a floating net cage gained the highest SGR and SR significantly ($p < 0.05$). FI was significantly lesser ($p < 0.05$) at a stocking density of 30 fish/m³, while FCR was significantly lower ($p < 0.05$) at a stocking density of 40 fish/m³. Thus, this study suggests that a smaller stocking density of 20 fish/m³ is more effective to be used in the culture of grouper *E. coioides* in a floating net cage.

KEYWORDS: *Epinephelus coioides*, floating net cage, growth, orange-spotted grouper, stocking density

How to cite this article: Imlani, A.H., Tahiluddin, A.B., Sarri, J.H., Imlani, M.H. (2022) Growth and Survival Rates and Feed Utilization of Orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* Cultured at Different Stocking Densities in Floating Net Cage. *MedFAR*, 5(2):47-53

1. Introduction

Aquaculture is the fastest-growing sub-sector of the food industry, surpassing terrestrial meat production and natural capture fisheries (Aypa and Baconguis, 2000; Tacon, 2001; BFAR, 2019; Tahiluddin and Terzi, 2021a). Global aquaculture production of 114.5 million tons of live fish in 2018 resulted in a total farm gate sale value of USD 263.6 billion. Nearly 46 percent of the fish production was intended to be consumed by humans, while 52 percent was used to feed wildlife (FAO, 2020). As the world population continues to increase, the demand for seafood products as a protein source also rises (Merino et al., 2012; Tahiluddin and Terzi, 2021b). In many developing nations, including Africa and Asia, aquaculture has been introduced to help people overcome poverty and improve living standards (Edwards, 2000). The production of fish in natural waters and aquaculture is becoming increasingly important as a relatively cheap source of protein for humans and livestock (Coche et al., 1994; Khalil and Polling, 1997; Bichi and Yelwa, 2010; Komatsu and Kitanishi, 2015). Aquaculture not only supplies food for immediate consumption but also provides large numbers of jobs and economic gains (Tahiluddin and Kadak, 2022). In Southeast Asian countries, among the important cultured species that supports economic development is the grouper (Pierre et al., 2008). In the Philippines, the grouper is considered to be a highly prized and good-tasting fish (Kohno et al., 1988; Baliao et al., 2000). Thus, this species of finfish offers a lot of potential for aquaculture.

Throughout Southeast Asia, the grouper *Epinephelus* spp., locally known as *lapu-lapu* or *inid* in the Philippines, has been cultured for decades in ponds and net cages, and trawlers and purse seiners traditionally fed grouper with trash fish (Baliao et al., 2000; Hseu, 2002; Pomeroy, 2002). Bamboo fish traps, gill-net and hook and line are common methods of catching groupers by small-scale fishermen (Kohno et al., 1988). As one of the most valuable food fish in the Philippines,

groupers make up 2% of the total seafood catch, making aquaculture of this species of finfish very promising (Kohno et al., 1988; Baliao et al., 2000). In addition, it is expected that in the near future, the grouper's export price will increase as demand for the product in international markets increases, particularly in Japan, Hongkong and Singapore (Baliao et al., 2000). Therefore, grouper culture could provide the country with another source of revenue.

The advantage of growing fish in a floating net cage is that they can be stocked much more densely than in other types of fish farming (Cache, 1976). Nonetheless, the degree to which grouper eggs hatch depends on the stocking density (Fukuhara, 1989). The flow of water current in coastal waters or rivers allows for high stocking densities of fish in floating net cages due to the fact that it supplies adequate amounts of dissolved oxygen, removes metabolic wastes from fish, and reduces the effects of overcrowding (Teng and Chua, 1978). To ensure optimal stocking density, floating net cages are stocked based on the species, size and weight of fish initially stocked, location, cage shape and size (Teng and Chua, 1978). In net cages, varying optimum stocking densities for different economically fish species have been reported (Bardach et al., 1972; Howard, 1974; Fujiya, 1976). Previous studies for the past decades have been carried out to determine the optimum stocking densities of orange-spotted grouper *E. coioides* in the recirculating system (Samad et al., 2014), estuary grouper *E. salmoides* in a floating net cage (Teng and Chua, 1978; Chua and Teng, 1979), tiger grouper *E. fuscoguttatus* in a flow-through system (Salari et al., 2012), and hybrid grouper ♂ *E. lanceolatus* x ♀ *E. fuscoguttatus* in recirculating aquaculture systems (Shao et al., 2019). The purpose of this study was to determine the different stocking densities, i. e. 20, 30, and 40 fish/m³ of orange-spotted grouper *E. coioides* in floating net cage cultured along the Bongao channel in Tawi-Tawi, Philippines.

2. Material and Methods

Study site and Duration

The study was carried out along the Bongao Channel, Tawi-Tawi, Philippines (05°02' 09.7" N, 119°44' 54.5" E) for a duration of 60 days.

Experimental fish

The orange-spotted grouper (*E. coioides*) used in the study was obtained from Multi-species Hatchery, Lato-Lato, Bongao, Tawi-Tawi with an average weight of 12.17 ± 0.81 g.

Experimental Design

This experiment utilized net cages that were suspended from a wooden frame. Each net cage is 1 x 1 x 1 m in size and is made of polyethylene netting with a mesh size of about 0.5 cm. A total of 12 cages were suspended in the water. The fish were stocked randomly using three stocking densities: 20, 30 and 40 fish per m³ represented here as T₁, T₂ and T₃, respectively. Each treatment had

four replications. The water parameters, like salinity and temperature, were 33 – 35 ‰ and 26 – 29 °C, respectively. Water can freely exchange between cages and the ocean due to tidal currents.

Feeding

Trash fish, such as scads (*Decapterus* sp.) and sardines (*Sardinella* sp.), was chopped into tiny pieces and fed to the fish. Feeding was done twice a day in the afternoon with 10% of the average body weight (Galzote and Abrera, 2007).

Sampling

Sampling was conducted every 15 days during the culture period to determine the survival and growth rates of orange-spotted grouper *E. coioides* cultured in a floating net cage. The survival rate, specific growth rate (SGR), and feed utilization were computed using the following formula (Kader et al., 2017):

$$\text{Survival rate (\%)} = \frac{\text{Final number of stocks}}{\text{Initial number of stocks}} \times 100$$

$$\text{WG (g)} = \text{ABWf} - \text{ABWi}$$

$$\text{SGR (\% Day)} = \frac{\ln(\text{ABWf}) - \ln \text{ABWi}}{\text{DOC}} \times 100$$

$$\text{FCR} = \frac{\text{FI}}{\text{WG}}$$

Where: WG = weight gain

ABWf = average body weight final

ABWi = average body weight initial

DOC = days of culture

Where: FCR = feed conversion ratio

FI = feed intake

WG = weight gain

Statistical analysis

IBM SPSS version 20 was used to analyze the data at a significance level of 0.05. The collected data were presented as the mean \pm standard error of the mean (SEM). One-way analysis of variance (ANOVA) was performed on the data to identify significant

differences in the different treatments in terms of growth rate, survival rate, and feed utilization. Duncan's Post-Hoc Test was used to rank the mean

3. Results

Table 1 shows the growth rate, survival rate, and feed utilization of *E. coioides* cultured at different stocking densities in a floating net cage for 60 days. The average final weights of individual fish in T₁ (20 fish/m³), T₂ (30 fish/m³) and T₃ (40 fish/m³) were 38.59 ± 0.95 g, 24.33 ± 0.53 g and 17.26 ± 0.52 g, respectively. Results revealed that T₁ was significantly higher than T₂ and T₃. The mean gain weight of fish in T₁ (25.87 ± 0.95 g) was significantly greater than T₂ (13.26 ± 0.53 g) and T₃ (4.56 ± 0.51 g). SGR of T₁, T₂ and T₃ were 1.85 ± 0.04 % day⁻¹, 1.31 ± 0.04 % day⁻¹ and 0.51 ± 0.05 % day⁻¹, respectively, indicating that T₁ was

significantly higher ($p < 0.05$) among treatments. In addition, survival rates of T₁, T₂ and T₃ were 92.50 ± 1.44 %, 89.17 ± 2.10 % and 83.75 ± 2.17 %, respectively and analysis showed T₁ was significantly higher ($p < 0.05$) than T₃ at the end of the culture period, but not significant with T₂. The feed intake (FI) of T₂ (37.89 ± 0.88) was statistically lower ($p < 0.05$) than T₁ (45.72 ± 1.45) and T₃ (56.17 ± 0.57). Moreover, the feed conversion ratio (FCR) of T₁, T₂, and T₃ were 0.57 ± 0.02, 0.35 ± 0.01, and 0.08 ± 0.01, respectively, where T₃ was significantly lower ($p < 0.05$) among treatments.

Table 1. Growth rate, survival rate, and feed utilization of *E. coioides* cultured at different stocking densities in a floating net cage.

Treatment	IW (g)	FW (g)	WG (g)	SGR (%)	SV (%)	FI	FCR
T ₁ (20 fish/m ³)	12.73 ± 0.01	38.59 ± 0.95 ^a	25.87 ± 0.95 ^a	1.85 ± 0.04 ^a	92.5 ± 1.44 ^a	45.72 ± 1.45 ^b	0.57 ± 0.02 ^a
T ₂ (30 fish/m ³)	11.07 ± 0.01	24.33 ± 0.53 ^b	13.26 ± 0.53 ^b	1.31 ± 0.04 ^b	89.17 ± 2.10 ^{ab}	37.89 ± 0.88 ^c	0.35 ± 0.01 ^b
T ₃ (40 fish/m ³)	12.70 ± 0.01	17.26 ± 0.52 ^c	4.56 ± 0.51 ^c	0.51 ± 0.05 ^c	83.75 ± 2.17 ^{bc}	56.17 ± 0.57 ^a	0.08 ± 0.01 ^c

IW: initial weight; FW: final weight; WG: weight gain; SGR: specific growth rate; SV: survival rate; FI: feed intake; FCR: food conversion ratio. Rows with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

4. Discussion

In aquaculture, the production and growth of cultured fish are primarily dependent on population density (Teng and Chua, 1978; Chua and Teng, 1979). Culturing fish using greater stocking density has resulted in reduced growth and survival rates as well as an increased food conversion ratio (Powell, 1972). Additionally, the higher the stocking densities coupled with unsuitable feeding, the greater the size variation (Hseu, 2002). In the present study, a stocking density of 20 fish/m³ fish gained the highest growth rate compared to fish cultured at 30 and 40 fish/m³ stocking densities. The survival rate was better in 20 and 30 fish/m³ cultured in floating net cages. In addition, the feed intake was lowest in 30 fish/m³, and the feed conversion ratio was lowest in 40 fish/m³. However, different results were obtained when the same species *E. coioides* cultured in a recirculating system, a high stocking

density of 25 fish/100-L aquaria gained the highest growth compared to 15 and 20 fish/aquaria stocking densities, while all stocking densities had the highest survival rate (Samad et al., 2014). In estuary grouper, *E. salmoides*, fish cultured in a floating net cage at a stocking density of 15 fish/m³ showed parallel results to 30 and 60 fish/m³ in terms of food conversion efficiency, condition factor, survival and growth rates (Teng and Chua, 1978; Chua and Teng, 1979). In a flow-through system experiment by Salari et al. (2012), tiger grouper juvenile (*E. fuscoguttatus*) at different stocking densities of 1, 3 and 5 fish per liter found better growth and lower food conversion ratio was observed in fish at 3 individual per liter. Also, the stocking density of 2.06 – 3.09 kg/m³ was found to be the most desirable for culturing juvenile hybrid grouper ♂ *E. lanceolatus* x ♀ *E. fuscoguttatus* in

recirculating aquaculture systems when compared to 1.03 and 4.11 kg/m³ (Shao et al., 2019). However, to increase grouper production in a floating net cage, a high stocking density could be an option, provided that the utilization of artificial hides has to be taken into account (Chua and Teng, 1979).

In fish and shrimp cultures, feed conversion ratio values range between 1.0 and 2.4 (Fry et al., 2018). In the present study, *E. coioides* cultured in a floating net cage at different stocking densities (20 – 40 fish/m³) obtained low feed conversion ratios ranging from 0.08 – 0.57. Occasionally, an FCR of less than 1.0 has also been reported, notably in salmonid aquaculture (Boyd, 2021). The

influence of stocking densities (15 – 25 fish/100-L aquarium) on the feed utilization of cultured grouper *E. coioides* has been previously investigated with significant findings depending on the use of culture systems, i.e., recirculation and flow-water system. Their findings revealed that the FI of *E. coioides* increases with increasing stocking density, while FCR was lowest at the highest stocking density in the recirculation system (Samad et al., 2014). These findings were parallel to the results of the present study. Boyd (2021) emphasized that a low FCR is an indicator of an efficient aquaculture operation.

5. Conclusion

Stocking density is an important aspect of aquaculture in order to obtain higher production. Our experiment revealed that the lower (20 fish/m³) the stocking density of *Epinephelus coioides* (orange-spotted grouper) farmed in a floating net cage, the better the

growth and survival rates, and the higher the feed utilization. Hence, lower stocking density is recommended for culturing an agile and voracious fish, such as the orange-spotted grouper *E. coioides*, in a floating net cage.

Acknowledgments

The authors would like to thank Prof. Dr. Mary Joyce Z. Guinto-Sali for the support.

References

- Aypa, S.M., Bacongus, S.R. (2000) Philippines: mangrove-friendly aquaculture. In: Primavera, J.H., Garcia, L.M.B., Castaños, M.T., Surtida, M.B. (Eds.), Mangrove-friendly aquaculture: Proceedings of the workshop on mangrove-friendly aquaculture organized by the SEAFDEC Aquaculture Department, January 11-15, 1999, Iloilo City, Philippines. pp. 41–56.
- Baliao, D. D., Franco, N. M., Jamon, N. R. S. (2000) Grouper culture in floating net cages. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.
- Bardach, J. E., Ryther, J. H., McLarney, W. O. (1972) Aquaculture. The farming and husbandry of freshwater and marine organisms. John Wiley & Sons, Inc.
- BFAR (2019) Philippine fisheries profile 2018. PCA Compound, Elliptical Road, Quezon City Philippines
- Bichi, A., Yelwa, S. (2010) Incidence of piscine parasites on the gills and gastrointestinal tract of *Clarias gariepinus* (teugels) at Bagauda fish farm, Kano. Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 3(1):104-107
- Boyd, C. E. (2022) A low feed conversion ratio is the primary indicator of efficient aquaculture. Retrieved from: <http://www.globalseafood.org/advocate/a-low-feed-conversion-ratio-is-the-primary-indicator-of-efficient-aquaculture/> November 11, 2022.

- Cache, A. G. (1976). A general review of cage culture and its application in, Africa. FAO Technical Conference on Aquaculture, Kyoto, Japan, 26 May-2 June 1976. In Tech. Pap. No. FIR: AQ/Conf/76/E (Vol. 72, p. 33).
- Chua, T. E., Teng, S. K. (1979) Relative growth and production of the estuary grouper *Epinephelus salmoides* under different stocking densities in floating net-cages. Marine biology, 54(4): 363-372.
- Coche, A. G. (Ed.). (1994) Aquaculture development and research in Sub-Saharan Africa: national reviews (No. 23). Food & Agriculture Org.
- Edwards, P. (2000) Aquaculture, poverty impacts and livelihoods. London, UK: Overseas Development Institute.
- FAO (2020) The State of World Fisheries and Aquaculture 2020; Food and Agriculture Organization: Rome, Italy, 2020.
- Fry, J. P., Mailloux, N. A., Love, D. C., Milli, M. C., Cao, L. (2018) Feed conversion efficiency in aquaculture: do we measure it correctly?. Environmental Research Letters, 13(2): 024017.
- Fujiya, M. (1976). Yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) farming in Japan. Journal of the Fisheries Board of Canada, 33(4), 911-915.
- Fukuhara, O. (1989) A review of the culture of grouper in Japan. Bull. Bulletin of the Nansei Regional Fisheries Research Laboratory (Japan), 22: 47-57.
- Galzote, G. V., Abrera, E. C. (2007) Growth and yield of the grouper *Epinephelus coioides* fed 'trash fish' at different rates and frequencies in floating net cages. In T. U. Bagarinao (Ed.), Research Output of the Fisheries Sector Program (Vol. 2. Reports on Fisheries and Aquaculture, pp. 25-27). Quezon City, Philippines: Bureau of Agricultural Research, Department of Agriculture.
- Howard, K. T. (1974) Trials on rearing systems for marine flatfish cultivation. Fish Farming Int, 3.
- Hseu, J. R. (2002) Effects of size difference and stocking density on cannibalism rate of juvenile grouper *Epinephelus coioides*. Fisheries science, 68(6):1384-1386.
- Kader, M. A., Bulbul, M., Asaduzzaman, M., Abol-Munafi, A. B., Noordin, N. M., Ikhwanuddin, M., Ali, M. E. (2017) Effect of phospholipid supplements to fishmeal replacements on growth performance, feed utilization and fatty acid composition of mud crab, *Scylla paramamosain* (Estampador 1949). Journal of Sustainability Science and Management Special Issue, 3: 47-61.
- Khalil, L. F., Polling, L. (1997) Check list of the helminth parasites of African freshwater fishes (Ed. 2).
- Kohno, H., Duray, M., Juario, J. (1988) State of grouper (lapu-lapu) culture in the Philippines. SEAFDEC Asian Aquaculture, 10(2): 4-9.
- Komatsu, K., Kitanishi, K. (2015) Household Protein Intake and Distribution of Protein Sources in the Markets of Southern Ghana: A Preliminary Report. African Study Monographs.51(3): 157-173.
- Merino, G., Barange, M., Blanchard, J. L., Harle, J., Holmes, R., Allen, I., Rodwell, L. D. (2012). Can marine fisheries and aquaculture meet fish demand from a growing human population in a changing climate? Global Environmental Change, 22(4), 795-806.
- Pierre, S., Gaillard, S., Prévot-D'Alvise, N., Aubert, J., Rostaing-Capaillon, O., Leung-Tack, D., Grillasca, J. P. (2008) Grouper aquaculture: Asian success and Mediterranean trials. Aquatic Conservation: Marine and freshwater ecosystems, 18(3): 297-308.

- Pomeroy, R. S. (2002) The status of grouper culture in Southeast Asia. SPC Live Reef Fish Information Bulletin, (10): 22-26.
- Powell, M. R. (1972) Cage and raceway culture of striped bass in brackish water in Alabama. In Proceeding of the 26th Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissions (pp. 553-565).
- Salari, R., Saad, C. R., Kamarudin, M. S., Zokaeifar, H. (2012) Effects of different stocking densities on tiger grouper juvenile (*Epinephelus fuscoguttatus*) growth and a comparative study of the flow-through and recirculating aquaculture systems. African Journal of Agricultural Research, 7(26): 3765-3771.
- Samad, A. P. A., Hua, N. F., Chou, L. M. C. (2014) Effects of stocking density on growth and feed utilization of grouper (*Epinephelus coioides*) reared in recirculation and flow-through water system. African Journal of Agricultural Research, 9(9): 812-822.
- Shao, T., Chen, X., Zhai, D., Wang, T., Long, X., Liu, Z. (2019) Evaluation of the effects of different stocking densities on growth and stress responses of juvenile hybrid grouper ♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *Epinephelus lanceolatus* in recirculating aquaculture systems. Journal of Fish Biology, 95(4): 1022-1029.
- Tacon, A. (2001) Increasing the contribution of aquaculture for food security and poverty alleviation. In R.P. Subasinghe, P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery & J.R. Arthur, eds. Aquaculture in the Third Millennium. Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium, Bangkok, Thailand, 20-25 February 2000. pp.63-72. NACA, Bangkok and FAO, Rome.
- Tahiluddin, A. B., Terzi, E. (2021b) A review of reported bacterial diseases and antibiotic use in tilapia culture in the Philippines. Acta Natura et Scientia, 2(2): 141-147.
- Tahiluddin, A.B., Kadak, A.E. (2022) Traditional fish processing techniques applied in the Philippines and Turkey. Menba Kastamonu University Faculty of Fisheries Journal, 8(1):50-58
- Tahiluddin, A.B., Terzi, E. (2021a) An overview of fisheries and aquaculture in the Philippines. Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences, 6(4): 475-486.
- Teng, S. K., Chua, T. E. (1978) Effect of stocking density on the growth of estuary grouper, *Epinephelus salmoides* Maxwell, cultured in floating net-cages. Aquaculture, 15(3): 273-287.

ARAŞTIRMA MAKALESİ

Geliş: 21 Kasım 2022 | Kabul: 30 Kasım 2022

***Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) Ekstraktlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri**

Büşra Peksezer*^{ORCID}, Mehmet Tahir Alp^{ORCID}, Deniz Ayas^{ORCID}

Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yenişehir Mersin

*Sorumlu yazar e-mail: peksezerb44@gmail.com

ÖZET

Makroalgler biyolojik aktivitelerinden dolayı önemli bir yere sahiptir. Makroalglerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yaptığımız çalışmada, yeşil algler (Chlorophyta)'den *Ulva intestinalis*, kahverengi algler (Phaeophyceae)'den *Sargassum vulgare* türleri kullanılmıştır. Ekstraksiyon olarak aseton, etanol, kloroform ve metanol kullanılarak makroalglerin kuyucuk difüzyon ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemi ile gram pozitif bakteri suşlarından *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'e ve maya olarak da *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*'e karşı antimikrobiyal aktivitelere bakılmıştır. Sonuç olarak, antimikrobiyal aktivite değerleri yönüyle baktığımızda *Sargassum vulgare* (0.36 mm) *Enterococcus faecalis*'e karşı, *Ulva intestinalis* (0.23 mm) *Staphylococcus aureus*'a karşı olarak tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Antimikrobiyal, Makroalg, *Ulva intestinalis*, *Sargassum vulgare*

Antimicrobial Effects of Extracts from *Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) and *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) on Some Pathogenic Microorganisms

ABSTRACT

Macroalgae have an important place due to their antimicrobial properties. In our study to determine the antimicrobial properties of macroalgae, green algae (Chlorophyta) *Ulva intestinalis* and brown algae (Phaeophyceae) *Sargassum vulgare* were used. Macroalgae, gram positive bacteria strains *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, gram negative bacterial strains *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and yeast parapsilrobial activities against *Candida parapsilrobial* activities by using acetone, ethanol, chloroform and methanol as extraction, well diffusion and spectrophotometric broth microdilution method in macroalgae. As a result, when we look at the antimicrobial activity values, *Sargassum vulgare* (0.36 mm) was determined against *Enterococcus faecalis*, *Ulva intestinalis* (0.23 mm) was determined against *Staphylococcus aureus*.

KEYWORDS: Antimicrobial, Macroalgae, *Ulva intestinalis*, *Sargassum vulgare*

How to cite this article: Peksezer, B., Alp, M.T., Ayas, D. (2022) *Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützing) J. Agardh 1889) Ekstraktlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri. *MedFAR.*, 5(2):54-64

1. Giriş

Dünya üzerinde türü ve sayısı bilinmeyen milyarlarca canlı yaşamını sürdürmektedir. Bu canlıların her birinin ekosistemde bir görevi bulunmakta ve böylelikle ekosistem döngüsünü devam ettirmektedir. Algler de ekosistem döngüsü içerisinde yer alan canlı gruplarından bir tanesidir ve sucul ekosistemin birincil üretim kaynağını oluştururlar (Bhadury ve Wright, 2004; Gül, 2019). Algler yapısal, hücre yönüyle ve doğal seçim üremeleriyle diğer bitkilerden farklılık gösterirler. Primer üretici olan bu canlılar yapısındaki pigmentler sayesinde su ortamındaki çözülmüş oksijen oranının ve besin değerinin artmasını sağlayarak kendi gelişimlerini de sağlamaktadır.

Alglerin gelişimi ve ekolojik dağılımına fiziksel, kimyasal ve dinamik olmak üzere üç etken etkilemektedir. Fiziksel faktörlerden turbidite, sıcaklık, ışık ve substrat etkilerken; kimyasal faktörlerden vitaminler, besleyici tuzlar, oligo elementler, suda çözülmüş halde bulunan gazlar, pH ve tuzluluk etkiler. Dinamik faktörlere bakıldığında ajitasyon, basınç ve emersiyon faktörlerinin etkilediği görülmüştür (Aktar ve Cebe, 2010; Cirik ve Cirik, 2011). Son yıllarda evsel, endüstriyel

ve tarımsal atıklardan kaynaklı ötrofikasyona neden olan etkenler alglerin dağılımını etkilemektedir. Aynı zamanda fitoplankton popülasyonlarının artışıyla birlikte kokusunda, renginde değişiklikten kaynaklı ekolojik dengesinin bozulması alglerin dağılımına etki eden diğer faktörlerden bir tanesidir (Aktar ve Cebe, 2010; Oğur, 2016).

Denizlerin önemli canlı kaynaklarından biri olan algler diğer deniz canlıları için büyük önem taşımaktadır. Algler endüstrinin hemen birçok alanında kullanılmaktadır. Uzakdoğu ve Güney Asya ülkelerinde gıda olarak kullanılan algler, tıpta, eczacılıkta ve kozmetik sanayinde, tarımda ve gübre üretiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Peksezer vd., 2021).

Dünya genelinde ticari olarak kullanılan alg gruplarından olan Phaeophyta (Kahverengi Algler) ve Chlorophyta (Yeşil Algler) sınıfından olan *Ulva intestinalis* (Linnaeus 1753) ve *Sargassum vulgare* (F. Furcatum (Kützinger) J. Agardh 1889) türleri üzerinde çalışma yapıldı. Bu çalışma ile patojenlerle antimikrobiyal inhibitör aktiviteleri ve antimikrobiyal analizlerle alg türlerinin antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyaller

Çalışmamızda Mersin ve Karataş sahillerinden toplanan *Ulva intestinalis* (Chlorophyta), *Sargassum vulgare* (Phaeophyceae) türleri toplanarak kullanılmıştır.

Ulva intestinalis boru şeklinde, kıvrımlı, bağırsak benzeri ve buruşuk görünümlü, yaprakları dallı alglerdir (Şekil 1.a). 10-30 cm uzunluğunda ve 6-18 mm genişliğinde alglerdir. Genellikle epilitik gelişen denizlerde ve acı sularda bulunan alglerdir (Turna, 2012).

Sargassum vulgare yaprakları, kaburga şeklinde uzanan, kenarları dalgali ve az ya da çok derin girintilere sahiptir (Şekil 1.b). Yaprakların dibinde, küresel bir veziküller veya

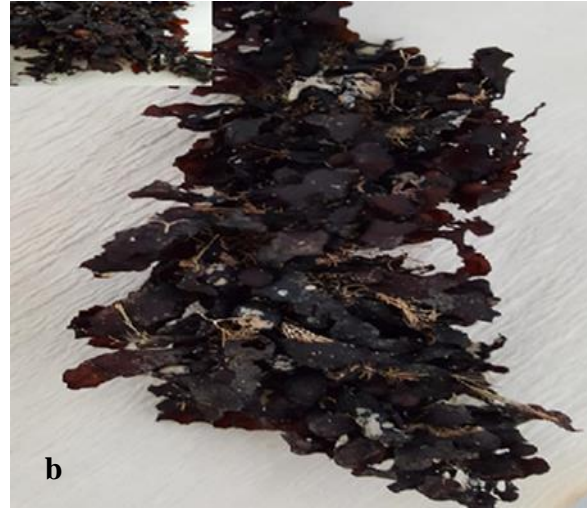
yüzer, içi boş, kısa bir çiçek sapı tarafında taşlanır. 4-5 cm boyunda, 3-4 mm çapında talluslara sahiptir. Genellikle sığ sularda ve mercan resiflerinde yaşayan, ılıman ve tropik yerlerde dağılım gösteren alglerdir (Marinho vd., 2006).

Antimikrobiyal etkinlikler için Gram (+) bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 23235, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; Gram (-) bakterilerden *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27236 ve mantarlardan *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* kullanılmıştır.



Bölüm: Chlorophyta
Sınıf: Ulvophyceae
Takım: Ulvales
Familya: Ulvaceae
Cins: Ulva

Tür: *Ulva intestinalis*, (Hudson) J.V.Lamoureaux 1809



Bölüm: Phaeophyta
Sınıf: Phaeophyta
Takım: Fucales
Familya: Sargasaceae
Cins: Sargassum

Tür: *Sargassum vulgare*, C.Agardh 1820

Şekil 1. a) *Ulva intestinalis* (Orijinal), **b)** *Sargassum vulgare* (Orijinal)

2.2. Yöntem

2.2.1. Alglerin toplanıp saklanması

Mart ve ağustos aylarında Mersin (36°46'47"N 34°35'57"E) ve Karataş (36°33'59"N 35°22'22"E) sahillerinden toplanan *Ulva intestinalis*, *Sargassum vulgare* türleri soğuk zincir ile Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi laboratuvarına getirilmiştir. Örnekler yıkanıp arındırıldıktan sonra 35°C 'de 12 saat süreyle etüvde kurutulmuştur. Kurutulan alg örnekleri elekten geçirilerek kumlardan tamamen arındırılmıştır. Elekten geçirilen makroalg örnekleri öğütücüde un haline getirilerek analizlere hazır hale getirilmiş ve -4°C'de analiz yapılana kadar falkon tüpleriyle saklanmıştır.

2.2.2. Ekstraksiyonlar

Analiz için hazırlanan makroalg örnekleri 3 paralelli olarak çalışılmıştır. Aseton, etanol, kloroform ve metanol solventleri kullanılmıştır. 2 gr alg örneklerinden alınarak erlenlere bırakılmıştır üzerine 40 ml solvent eklenmiştir. Hazırlanan örnekler 24 saat boyunca

mekanik çalkalayıcıda bekletilmiş alglerin çözülmesi sağlanmıştır. Ekstrakt örnekleri filtre kağıdından geçirilerek çözülmeyen partikül parçacıklardan arındırılmıştır.

GC-MS ile kimyasal analiz için ekstraksiyon yöntemi ise; 2 gr alg örneğinden alınarak erlenlere bırakılıp üzerlerine 20 ml etanol eklenmiştir. Solvent eklenen örnekler 24 saat boyunca mekanik çalkalayıcıda bekletilmiş ve 24 saat sonunda filtre kağıdından süzdürülüp mikrofiltreden geçirilmiştir. Sonra 80°C'de Rotary Evaporatör'de solvent ortamdan uzaklaştırılmıştır. Solventi uçurulan alg örneklerinin üzerine 20 ml'lik hekzan eklenmiştir. Ekstraktlar tüplere bırakılıp GC-MS 'de okunmaya bırakılmıştır.

2.2.3. Kimyasal Bileşen Analizi (GC-MS)

Analizde ayırma işlemi HP-5MS kolonu (30mx250µx0,25µm) ile gerçekleştirilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dakika akış hızındaki helyum kullanılmıştır. Fırın sıcaklık programı çerçevesinde 60 °C den başlayıp, 2 dk bu sıcaklıkta bekletilen ve dakikada 10°C/dakika artışlarla 300 °C'ye çıkarılıp 6

dk bu sıcaklıkta bekletilen her bir örneğe ilişkin 2 ml, enjeksiyon hacmi 1 µl ve iyonlaşma voltajı ise 70 eV'dır. Ayrılmış bileşenler NIST 2008 (National Institute of Standards and Technology) ve Ulusal standartlar enstitüsü verileri ile kıyaslanarak yapılmıştır (Ragunathan vd., 2019).

2.2.4. Toplam Fenol Analizi

Hazırlanan ekstraktların toplam fenol içeriğine Yabalak ve Gizir (2017)'in uyguladığı Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak bakılmıştır. 1 ml Folin-Ciocalteu reaktifi ve 1 ml örnek çözeltiler tüplere bırakılıp karıştırılmıştır. 5 dk karanlıkta bekletilmiş; daha sonra 2 ml Na₂CO₃ (200 g/l) solüsyonu ve 2 ml distile su ilave edilerek tekrar karıştırılıp, 30 dk karanlıkta bekletilmiştir. UV spektrofotometre kullanılarak 700 nm'de absorbansları ölçülmüştür. Standart olarak Gallik asit kullanılmıştır. Ekstraktların konsantrasyonlarını hesaplamak için elde edilen sonuçlar miligram gallik asit olarak verilmiştir (mg GAE/100 g dw).

2.2.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Hazırlanmış olan ekstratların antimikrobi-

yal aktiviteleri spektrofotometrik broth mikrodilüsyon ve agar kuyucuk dilüsyon yöntemleri kullanılarak çalışılmıştır.

Agar kuyucuk yöntemi için, katı besiyerine önce 6 mm lik kuyucuklar açılır ve tüm besiyeri yüzeyine mikroorganizma ekimi yapılır. 6 mm lik kuyucuklara 50 mikrolitre örnek konulur. Tüm örnekler 37°C'de 24 saat boyunca inkübasyona bırakılır. Sonuçlar Images programında zon çapları ölçülerek değerlendirilir (Patton vd., 2005). Spektrofotometrik broth mikrodilüsyon için makroalglerden elde edilen ekstraktlar için steril 96 kuyucuklu plakalar hazırlanmıştır. Mikroplakalardaki kuyucuklara besiyerinden 50 µl konularak ilk kuyucuğa ekstraktlardan 100 µl bırakılarak ilk on sıraya çift katlı dilüsyonu yapılmıştır. Besiyeri kontrolleri için negatif ve pozitif kontroller son iki sütuna bırakılmıştır. Daha sonra ekstrakt ve antibiyotik bulunan kuyucuklara 5 µl mikroorganizma eklenip inkübasyona bırakılmıştır. spektrofotometrik ölçümleri 600 nm'de alınmıştır. Yüzde inhibisyon değerler formülü ile hesaplanmıştır. Elde edilen doğrusal eğim çizgisi üzerinden R² ve ardından MİK (Minimum Inhibisyon Konsantrasyonu) hesabı yapılmıştır (Patton vd., 2005).

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 - \left(\frac{\text{OD}_{\text{test}}_{t_{24}-t_0}}{\text{OD}_{\text{kontrol}}_{t_{24}-t_0}} \right) \times 100$$

2.2.6. İstatiksel Analiz

Çalışmada IZ ve MİK verileri Tek Yönlü Anova (Tukey) testleri ile değerlendirilmiştir.

Farklılıklar P<0,05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. GC-MS ile Kimyasal Bileşen Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada makroalg ekstraktlarının analizinde Tablo 1'de görüldüğü gibi hidrokarbonlar ve polar çözücüler tespit edilmiştir. Hidrokarbonlar; yapısında sadece karbon ve hidrojen bulunduran bileşiklerdir. Hidrokarbonlar ve türevleri fosil yakıtların ana bileşen maddelerdendir (Ergüler, 2022). Polar

çözücüler ise dimetil sülfoksit organokükürt bileşigidir. Özellikle bölgesel ağrı kesici olarak kullanılan polar çözücülerin. antioksidan ve anti-enflamatuar özellikleri tespit edilmiştir (American Chemical Society, 2000).

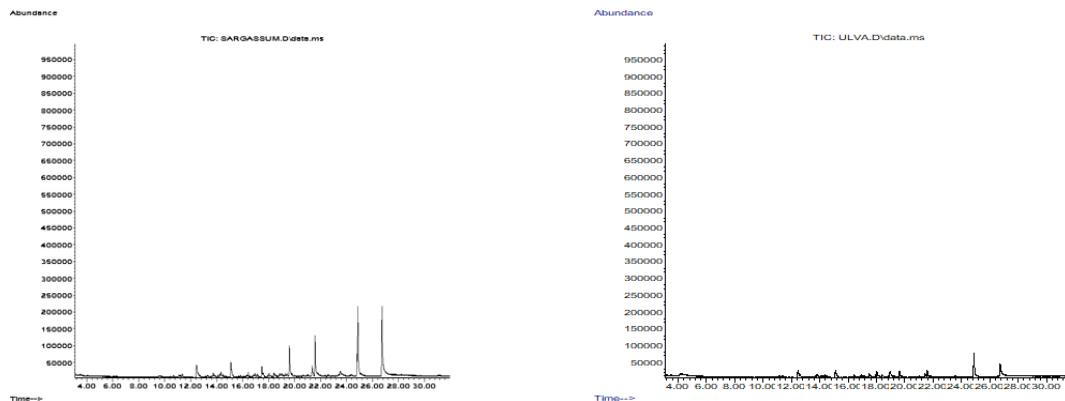
Tablo 1. *Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis*'in metanol ekstraktının GC-MS ile Kimyasal Bileşen Analizindeki Bileşikleri

Bekleme süresi (RT)*	Bileşikler (Compounds)	<i>S. vulgare</i> (%)	<i>U. intestinalis</i> (%)
4.179	Dimethyl Sulfoxide	-	1.04
12.453	Heptadecane	5.08	-
12.465	Nonadecane, Hexadecane	-	8.59
13.741	Octadecane	0.56	-
15.100	Pentadecane	6.58	-
15.106	Nonadecane	-	10.09
15.854	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl	0.50	-
16.441	Eicosane	0.57	-
17.480	Triacotane, Nonadecane	1.71	-
17.486	Heneicosane, Nonadecane, Pentacosane	-	2.33
17.569	Octadecane,	0.18	-
18.940	1-Butanamine, N-butyl,	-	3.77
19.005	Glycine	-	3.47
19.302	Docosane	0.82	-
19.605	Hexadecanoic	9.87	-
21.362	10-Octadecenoic acid, methyl ester	3.24	-
21.581	Octadecanoic, ethyl ester	10.55	-
24.816	Bis(2-ethylhexyl) phthalate,	3.25	5.13
24.875	N,N-Bis(2-hydroxypropyl)-5-aminobe	18.96	-
24.881	2-Phenyl-5-methoxy-oxadiazol, N,N-Bis(2-hydroxypropyl)-5-aminobe	-	22.42
26.739	13-Docosenamide, 9-Octadecenamide	24.27	20.45

*Bekleme süresi (dakika) (RT: Retention time); benzerlik oranı %60'ın üzerindeki alınmıştır

Literatür taramalarında kimyasal bileşen analizlerinde [El Shafay vd. \(2015\)](#) yapılan çalışma da *S.vulgare*'nin etanolik ekstraksiyonunun GC-MS analizinde etken maddesi di-n-octyl phthalate (48.26) olarak bulunmuştur. *S.vulgare*'nin etken maddesi ise 13-docosenamide'dir (24.27). [Taşçı \(2020\)](#) yaptığı çalışmada *S. vulgare*'nin GC-MS analizinde farklı hidroksialkan değerleri saptanmıştır. Konsantrasyon oranlarına göre değerler farklılık göstermiştir. SV1(*sargassum vulgare*) olarak belirtilen ekstraksiyonda etken madde tetradecane %32.74, SV64-65 (1250 µg/ml konsantrasyon oranı) olarak belirtilen

ekstraksiyonda etken madde propylene glycol DITMS %48.57 olarak bulmuşlardır. Çalışmamızdaki *S. vulgare*'deki etken madde 13-Docosenamide olarak farklılık göstermiştir, bu farklılığın nedeni farklı konsantrasyonlarda ekstraksiyonların olması ya da farklı yöntemler kullanılmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, *U. intestinalis*'le ilgili bir çalışmada GC-MS analizi sonucu 43 bileşik tanımlanmıştır. Etken madde olarak fitol (%21.404) ve 2-monopalmitin (%13.139) tespit edilmiştir ([Kulkarni vd., 2021](#)).

**Şekil 2.** *Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis*'in GC-MS İle Kimyasal Bileşen Grafiği

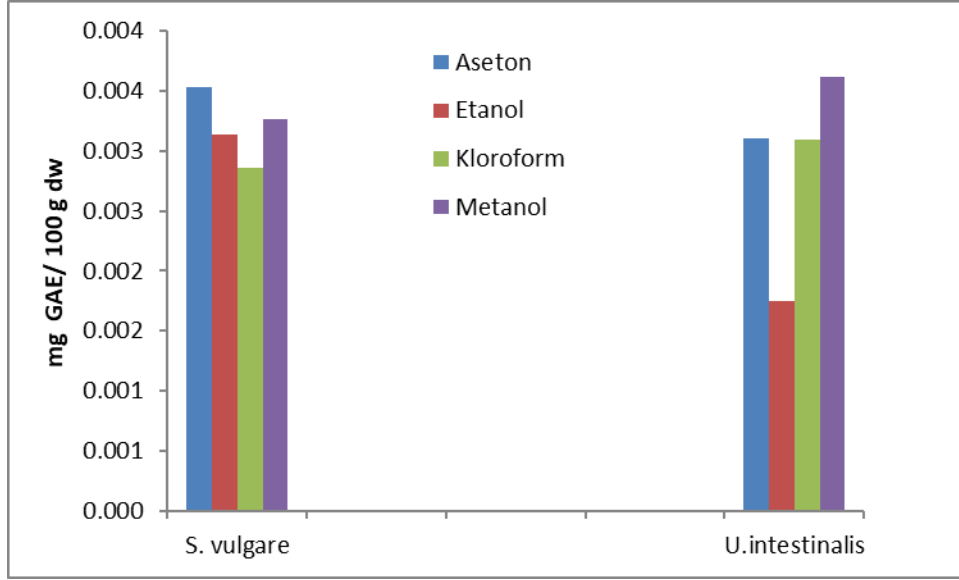
Çalışmamızda *S. vulgare* ve *U. intestinalis*'le yapılan GC-MS analiz sonucunda bulunan etken maddelerin farklı olması yöntem

farklılığından kaynaklanmış olabilir. *S. vulgare* ve *U. intestinalis* 'in GC-MS analiz grafikleri Şekil 2'de gösterilmiştir.

3.2. Makroalg Ekstraktlarının Toplam Fenol Miktarları

Sargassum vulgare ve *Ulva intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlardaki toplam fenolik içerik Şekil 3'te verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, ekstraktların toplam fenolik içerikleri, kuru ağırlık bazında *S. vulgare*'de aseton için 0.004 mg GAE/100 g, etanol için 0.003 mg GAE/100 g, kloroform için 0.003 mg GAE/100 g ve metanol için 0.003 mg GAE/100 g; *U. İntestinalis*'de aseton için 0.003 mg GAE/100 g, etanol için

0.002 mg GAE/100 g, kloroform için 0.003 mg GAE/100 g ve metanol için 0.004 mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir. Caf'ın 2014 yılında yaptığı bir çalışmada metanol ekstratı kullanılmış olan *S. vulgare*'nin toplam fenolik içeriği 16.04 mg GAE/100 g olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada değerler arasındaki farklılık kullanılan solvent farklılıklarından dolayı olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 3. *S. vulgare* ve *U. intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının toplam fenol miktarlarının gallik asit cinsinden değerleri.

3.3. Alg Ekstraktlarının Patojen Mikroorganizmalar Üzerinde İnhibisyon Zon Çapları ve MİK Değerleri

Kuyucuk difüzyon analizi ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizlerinde kontrol gruplarında; bakterilere karşı pozitif ampisilin antibiyotiği (128 µg/ml), inhibisyon zonu 10 ile 30 mm aralığında, MİK ise 32 ile 64 µg/ml aralığında bulunmuştur. Mantarlara karşı pozitif kullanılan Fukozonol antibiyotiği (128 µg/ml), inhibisyon zonu 5 ile 25 mm aralığında, MİK ise 32 ile 128 µg/ml aralığında bulunmuştur (Erdoğan Eliuz, 2021).

Sargassum vulgare'nin kuyucuk difüzyon testine göre en yüksek aktivitesi aseton ekstraksiyonunun *Enterococcus faecalis* (0.36

mm) bakterisine karşı olduğu tespit edilmiştir. *S. vulgare*'de *S. aureus* gram pozitif bakterisi aseton ekstraksiyonuna 0.32 mm, etanol ekstraksiyonuna 0.10 mm etkili olduğu görülmüşken kloroform ekstraksiyonu ve metanol ekstraksiyonuna karşı bir etki göstermediği görülmüştür. *S. vulgare*, *E. faecalis* gram pozitif bakterisi aseton ekstraksiyonuna karşı 0.36 mm etki göstermiştir. Etanol, kloroform ve metanol ekstraksiyonlarına karşı bir etki saptanmamıştır. *Escherichia coli* bakterisi (0.35 mm) ve *Candida parapsilosis* mantarı (0.29 mm) aseton ekstraksiyonuna karşı etki gösterirken etanol, kloroform ve metanol

ekstraksiyonuna karşı etki göstermemiştir. *S. vulgare*'de *Klebsiella pneumoniae* karşı hiçbir ekstraksiyonda etki göstermemiştir. *S. vulgare*, *Candida tropicalis*'e karşı aseton ekstraksiyonu 0.27 mm, etanol ekstraksiyonu

0.26 mm, kloroform ekstraksiyonu 0.21 mm, metanol ekstraksiyonu 0.24 mm olarak etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Sargassum vulgare*'nin IZ değerleri tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 2 *Sargassum vulgare*'nin aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının patojenlere karşı inhibisyon zon çapları (mm).

<i>Sargassum vulgare</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Aseton	0.32 ^a ±0.14	0.36^a±0.03	0.35 ^a ±0.01	0.00 ^a ±0.00	0.29 ^a ±0.13	0.27 ^a ±0.02
Etanol	0.10 ^b ±0.09	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.26 ^a ±0.01
Kloroform	0.00 ^c ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.21 ^a ±0.01
Metanol	0.00 ^c ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^b ±0.00	0.24 ^a ±0.02

Sargassum vulgare'nin spektrofotometrik broth mikrodilüsyon analizinde ekstraktlarının MİK değerleri tablo 3'de, *S. aureus*'a karşı 0.01 g/ml ve 0.68 g/ml; *E. faecalis*'a karşı 0.08 g/ml ve 1.20 g/ml; *E. coli*'ye karşı 0.44 g/ml ve 0.68 g/ml; *K. pneumoniae*'e karşı 0.03 g/ml ve 0.63 g/ml; *C. parapsilosis*'e karşı 0.30 g/ml ve 2.77 g/ml; *C. tropicalis*'e karşı 0.11 g/ml ve 1.17 g/ml aralığında

görülmüştür. *S. aureus*'a karşı en düşük (etikili) MİK değeri 0.01 g/ml olarak metanol ekstraktı, *E. faecalis*'e karşı MİK değeri 0.08 g/ml ile aseton ekstraktı, *E. coli*'ye karşı MİK değeri 0.44 g/ml aseton ekstraktı, *K. pneumoniae* 'e karşı MİK değeri 0.03 g/ml ile metanol ekstraktı, *C. parapsilosis*'e karşı MİK değeri 0.30 g/ml aseton ekstraktı, *C. tropicalis*'e karşı 0.02 g/ml metanol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3. *Sargassum vulgare*'nin aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının patojenlere karşı MİK değerleri (g/ml)

<i>Sargassum vulgare</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Aseton	0.45 ^a ±0.32	0.08 ^a ±0.08	0.44 ^a ±0.10	0.37 ^a ±0.21	0.30 ^a ±0.23	0.11 ^a ±0.08
Etanol	0.68 ^a ±0.49	0.32 ^a ±0.13	0.51 ^a ±0.26	0.63 ^a ±0.14	1.30 ^b ±0.39	0.45 ^a ±0.13
Kloroform	0.43 ^a ±0.23	1.20 ^b ±1.05	0.52 ^a ±0.20	0.50 ^a ±0.05	1.04 ^b ±0.41	1.17 ^b ±0.37
Metanol	0.01 ^a ±0.00	0.40 ^a ±0.20	0.68 ^a ±0.33	0.03 ^a ±0.04	2.77 ^b ±1.37	0.02 ^a ±0.01

Shafay vd. (2016) yaptığı çalışmada, metanol, etanol ve kloroform ekstraksiyonlarını farklı konsantrasyonlarda (50-75 mg/l, 100 µl) kullanarak *Staphylococcus aureus* antimikrobiyal etkisine bakmışlardır. Ekstraksiyonları hazırlanırken 5 gr makroalg, 40 ml çözücü kullanmışlardır. Kloroform ekstraksiyonunda 11.83 mg/ml konsantrasyonda MİK

değerini bulmuşlardır. Metanol ve etanol ekstraksiyonlarında MİK değerleri 0 olarak tespit edilmiştir. Kullanılan örnek miktarının ve konsantrasyonlardaki farklılıktan dolayı değerlerdeki etki miktarı değişmektedir. Aras ve Sayın (2020) yaptığı çalışmada *S. vulgare*'nin *S. aureus*'a ve *E. coli*'ye karşı anti-

mikrobiyal etki göstermediğini tespit etmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan çözücülerin ve antimikrobiyal analizler için kullanılan yöntemlerin farklılığından kaynaklı etki değerleri olabileceği düşünülmüştür. Taşçı'nın 2020'deki çalışmasında *S.vulgare*'nin antimikrobiyal etkilerine bakılmıştır. Antimikrobiyal etkileri için *E. coli* (ATCC® 25922™), *S. aureus* (ATCC® 25923™) patojenleri kullanılmıştır. Ekstraksiyonların farklı konsantrasyonlarına göre etkilerine bakılmış, SV-7(1875 µg/ml konsantrasyon oranı), SV-27(830 µg/ml konsantrasyon oranı) bileşikleri ve SV-64-65(1250 µg/ml konsantrasyon oranı) nolu fraksiyonları *S.aureus*'a karşı etkin bulmuşlardır. Yaptığımız çalışmada da metanol ekstraksiyonundaki en etkili değer *S.aureus* 'da görülmüştür. Bu durum, Taşçı (2020)'nin çalışmasıyla paralellik göstermiş-

tir. Literatür taramalarında ve yaptığımız çalışmada varılan sonuca göre *S.vulgare* türü antimikrobiyal açıdan etkili bir tür olduğu düşünülmüştür.

Ulva intestinalis'in ise kuyucuk difüzyon testine göre en yüksek aktivitesi kloroform ekstraksiyonunun *S. aureus* bakterisine karşı 0.23 mm olduğu tespit edilmiştir. *U. intestinalis*'in *S. aureus* bakterisine karşı aseton ekstraksiyonu 0.18 mm, kloroform ekstraksiyonu 0.23 mm, metanol ekstraksiyonu 0.20 mm olarak tespit edildi. *E. coli* sadece etanol ekstraksiyonunda 0.18 mm olarak tespit edilmiş ve diğer ekstraksiyonlarda etkisi görülmemiştir. *C. tropicalis* aseton ekstraksiyonunda 0.19mm etkisi tespit edilmiştir. *Ulva intestinalis*'in IZ değerleri tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 4. *Ulva intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol ekstraktlarının patojenlere karşı inhibisyon zon çapları (mm).

<i>Ulva intestinalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Aseton	0.18 ^a ±0.01	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.19 ^a ±0.01
Etanol	0.00 ^b ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.18 ^b ±0.08	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^b ±0.00
Kloroform	0.23 ^a ±0.02	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^b ±0.00
Metanol	0.20 ^a ±0.02	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^a ±0.00	0.00 ^b ±0.00

U. intestinalis ekstraktlarının mik değerleri tablo 5'de, *S.aureus*'a karşı 0.25 g/ml ve 0.67 g/ml; *E. faecalis*'a karşı 0.02 g/ml ve 0.21 g/ml; *E. coli*'ye karşı 0.01 g/ml ve 0.30 mg/ml; *K. pneumoniae*'e karşı 0.03 g/ml ve 1.78 g/ml; *C. parapsilosis*'e karşı 0.18 g/ml ve 0.22 g/ml; *C. tropicalis*'e karşı 0.02 g/ml ve 0.22 g/ml aralığında bulunmuştur. *S. aureus*'a karşı en düşük (etkili) MİK değeri 0.25 g/ml olarak kloroform ekstraktı, *E.faecalis*'e karşı MİK değeri 0.02 g/ml ile kloroform ekstraktı, *E. coli*'ye karşı MİK değeri 0.01 g/ml aseton ekstraktı, *K. pneumoniae* 'e karşı MİK değeri 0.03 g/ml ile metanol ekstraktı, *C. parapsilosis*'e karşı MİK değeri 0.18 g/ml

aseton ekstraktı, *C. tropicalis*'e karşı 0.02 g/ml metanol ekstraktı olduğu tespit edilmiştir.

Aras ve Sayın (2020) yaptığı çalışmada *U. intestinalis*'in yağını çalışılmışlardır. *S.aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermediğini, *E.coli*'ye karşı aktivite gösterdiğini saptamışlardır. Yaptığımız çalışmada *U. intestinalis*'in *S.aureus* ve *E.coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulunmuştur. Bu durum, alg yağlarının ve ekstraktların farklı antimikrobiyal etkiler oluşturacağını göstermiştir. Doğal olarak yağ ve ekstrakt içerikleri kimyasal olarak farklıdır.

Tablo5. *Ulva intestinalis*'in aseton, etanol, kloroform, metanol patojenlere karşı MİK değerleri (g/ml)

<i>Ulva intestinalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Aseton	0.38 ^a ±0.61	0.11 ^a ±0.13	0.01 ^a ±0.00	1.18 ^b ±0.68	0.18 ^a ±0.13	0.10 ^a ±0.13
Etanol	0.67 ^a ±0.32	0.21 ^a ±0.12	0.04 ^a ±0.02	0.44 ^a ±0.20	0.21 ^a ±0.03	0.18 ^a ±0.15
Kloroform	0.25 ^a ±0.13	0.02 ^a ±0.01	0.30 ^a ±0.10	1.78 ^b ±1.47	0.19 ^a ±0.06	0.22 ^a ±0.32
Metanol	0.66 ^a ±0.47	0.07 ^a ±0.10	0.08 ^a ±0.13	0.03 ^a ±0.02	0.22 ^a ±0.05	0.02 ^a ±0.01

Aydın (2021) yaptığı çalışmada *U. intestinalis*'den elde edilen metanol ekstraksiyonun etkisi *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* patojenleri üzerine araştırılmıştır. *U. intestinalis*'in metanol ekstraktlarından elde ettiğimiz MİK değerlerini Aydın'ın yaptığı çalışmayla kıyasladığımızda bulunan değerler doğrultusunda çalışmanın daha etkili olduğu görülmüştür. Aydın (2021) çalışmasında ekstrat metodu olarak, kurutulmuş algler 2 hafta boyunca metanol içerisinde bekletilmiş, elde edilen ekstraksiyon filtre kağıdından geçirildikten sonra 50°C'de buharlaştırılmış. Saflaştırılan algler 250 mg/ml DMSO içinde çözdürülmüş ve enson olarak 0.45 mm'lik şırınga filtreden geçirmişlerdir. Çalışmamızla Aydın'ın çalışmasındaki ekstraksiyon arasındaki farklılıktan dolayı etkinlik düzeyleri farklılık göstermiş olabileceği gibi, bu farklılığın nedeni ekstraksiyonlardaki etken maddelerin farklılığından da kaynaklanmış olabilir. MİK'in çalışmamızda daha düşük olması (etkili) ekstraksiyonun içindeki 2-Phenyl-5-methoxy-oxadiazol etken maddesinden kaynaklanmış olabilir.

Çınar (2012) *U. intestinalis* metanol ekstraktının inhibisyon zonlarını şöyle belirledi: *E. coli* (21 mm), *E. faecalis* (14 mm) ve *S. aureus* (17 mm). Bu çalışmada ise *E. faecalis* ve *E. coli* bakterileri *U. intestinalis* kloroform ve metanol ekstraktlarına karşı dirençli idi (0 mm). Ancak, her iki ekstrakt *S. aureus* bakterisi üzerinde inhibisyon etkiye sahipti (*U. intestinalis*'in kloroform özütü ve metanol özütünün *S. aureus* üzerinde IZ'ları sırasıyla

0.23 mm ve 0.20 mm. Bu durum bu çalışmada kullanılan ekstrakt konsantrasyonun farklılığından kaynaklanmış olabilir. Çünkü, Çınar (2012) çalışmasında algleri 10-15 gram'lık ağırlıklarda çözücülere eklerken (2:3); bu çalışmada 2 gramlık alg miktarları 40 ml çözücüde kullanıldı.

Kurutulmuş *U. intestinalis* algi ile metanol/kloroform/saf su (1:1:0,9) karışımı oluşturulmuş ve bu özütün antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Çalışmada, *E. coli* bakterisi *U. intestinalis* özütüne karşı hassas iken, *S. aureus* oldukça dirençli bulunmuştur (Aras 2020). Bizim çalışmamızda ise, sadece *U. intestinalis* etanol ekstraktı *E. coli*'yi inhibe etti. Ancak, *U. intestinalis* metanol/kloroform/saf su ekstraksiyonunun aksine, *U. intestinalis* aseton (0.18 mm), kloroform (0.23 mm) ve metanol ekstraktı (0.20 mm) *S. aureus* için etkili bir ajandı. Bu etki düşük olsa da, daha yoğun bir konsantrasyonla etki iyileştirilebilir.

Ayrıca, *Ulva*'nın başka bir türü olan *Ulva lactuca* ile hazırlanan 6 farklı ekstraktın (metanol ekstraktı, damıtma metanol, distile su ekstraktı, dimetil sulfoxid ekstraktı, aseton ekstraktı ve damıtma aseton) *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans* gibi birçok patojene karşı etkisiz olduğu belirlenmiştir (Ak-söz, 2016). Çalışmamızda da *U. intestinalis* benzer şekilde *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *C. parapsilosis* için etkisiz bir ajandı. Ancak, *U. intestinalis*'in aseton, kloroform ve metanol ekstraktları *S. aureus* üzerinde etkili bulundu

4. Sonuçlar ve Öneriler

Hızla artan dünya nüfusu ve küresel iklim krizi ile birlikte gıda hammaddelerinin azalması dolayısıyla insanlığın gıda erişimine ulaşımının zorlaşmasının her geçen yıl daha fazla olacağı öngörülmektedir. Gelecekte gıda güvenliği ve sağlığı açısından ürünlerin bozulmadan saklanabilmesi ve mikrobiyal olarak kontaminasyonun engellenmesi için antimikrobiyal ajanların doğal kaynaklardan elde edilebilmesi önemli araştırma konularından biri olacağı düşünülmektedir. Bu yönüyle, makroalgler antimikrobiyal özelliklerinden dolayı endüstriyel kullanımda bugün olduğu gibi gelecekte de önemli bir yere sahip olacaktır. Gerek ekonomik olarak birçok sektöre hammadde sağlaması gerekse ikincil metabolitlerinin antimikrobiyal ajan olarak kullanılma potansiyeli nedeni ile makroalgler önemli doğal kaynaklardan biridir ve keşfedilmeyi bekleyen önemli canlı kaynaklardan biridir.

Bu çalışmada toplanan makroalg türlerinin antimikrobiyal aktivitesine bakılmıştır. *Sargassum vulgare* ve *Ulva intestinalis* türlerine ait ekstraksiyonlardan agar kuyucuk dilüsyon yöntemi ve spektrofotometrik broth mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak gram pozitif bakteri suşlarından *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, gram negatif bakteri suşlarından *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*'e ve maya olarak da *Candida parapsilosis* ve *Candida tropicalis*'e karşı antimikrobiyal aktiviteler tespit edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *S.vul-*

gare ve *U.intestinalis* üzerinde de yapılan antimikrobiyal etkilerle ilgili çalışmalar farklı yöntemler kullanılarak tespit edilmiştir. Bu yöntemler birbirleri arasında kıyaslanarak en etkili antimikrobiyal oranlar karşılaştırılabilir.

Çalışmada ekstraksiyonların alg türlerine karşı etkilerinin farklı olduğu görülmektedir. Bu anlamda antimikrobiyal etkilere bakılırken ekstraksiyon türlerini artırarak alglerdeki antimikrobiyal etki değerleri kıyaslanabilir.

Gıda, tarım, ilaç, eczacılık, sanayi ve kozmetikte kullanılan makroalgler, denizlerin altın değerindeki kaynaklarından biridir. Algler ikincil metabolitler yönüyle zengin olduklarından dolayı birçok alanın gelişmesinde kullanılabilir ürünlerdir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda, alglerin anti inflamatuvar, antikanser, antitümör, anti oksidan, anti-viral, antikoagülan gibi birçok biyolojik özellikleri ortaya çıkarılmalı ve biyoteknolojik uygulamalarda önemli bir kaynak olarak daha fazla kullanılmalıdır.

Çalışmada kullanılan alg türleri antibakteriyel aktivite özelliği göstermesinden dolayı umut vericidir. Bu alglerle ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Geleneksel tıp sistemini bilimin ışığında standart bir ilaç sistemine dönüştürmek için algler önemli bir rol oynayabilir. Bu nedenle, bu alglerin antimikrobiyal aktivitesinin varlığını doğrulayan bu çalışma, ileriye dönük gerçekleştirilecek olan çalışmalar için bir kaynak görevi göreceği düşünülmektedir.

Teşekkür

Bu çalışma, Mersin Üniversitesi BAP tarafından 2020-1-TP3-4043 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

Aktar, S., Cebe, G.E. (2010) Alglerin genel özellikleri, kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi. Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi. 39(3):237-264.

American Chemical Society (2000) Dimethyl sulfoxide (dmsö) a "new" clean, unique, superior solvent. Washington, DC.

- Aras, A., Sayın, S. (2020) Geleceğin Fonksiyonel Ürünleri için Bazı Denizel Makroalgelerin Potansiyellerinin Belirlenmesi. *MedFAR*. 3(1):22-35.
- Aydın, B. (2021) Antibacterial Activities of Methanolic Extracts of Different Seaweeds from Iskenderun Bay. *International Journal of Secondary Metabolite*, 8(2):120–126.
- Bhadury, P., Wright, P.C. (2004) Exploitation of marine algae: biogenic compounds for potential antifouling applications. *Planta*. 219:561- 578.
- Cirik Ş., Cirik S. (2011) Su bitkileri I- Deniz Bitkilerinin Biyolojisi, Ekolojisi ve Yetiştirme Teknikleri, Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları.
- Çınar, B.E. (2012) Deniz alglerinin antimikrobiyal, antitümoral, antiprotozoal ve asetilkolinesteraz aktiviteleri. Yüksek lisans Tez, Celal Bayar Üniversitesi, Manisa.
- Erdoğan Eliuz, E. (2021) Antimicrobial Activity and Mechanism of Essential Oil of Endemic *Salvia hypargeia* Finc. and Mey. in Turkey. *Indian J Microbiol* <https://doi.org/10.1007/s12088-021-00939-1>.
- Ergüler, G.K. (2022) Açık Denizde Plankton Varlığı ile Hidrokarbon Enerji Kaynaklarının Belirlenmesi Çalışmaları: Doğu Karadeniz Örneği. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 34(2):206-216.
- Gül, E. (2019) Algler nedir? Görevleri nelerdir? 17 Mayıs Ekim 2022 tarihinde <https://www.bilgiustam.com /algler-nedir-gorevleri-nelerdir/#comments> adresinden erişildi.
- Kulkarni, S. A., Krishnan, S. B., Chandrasekhar, B., Banerjee, K., Sohn, H., Madhavan, T. (2021) Characterization of Phytochemicals in *Ulva intestinalis* L. and Their Action Against SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Receptor-Binding Domain. *Frontiers in Chemistry*. 9, Article 735768. doi: 10.3389/fchem.2021.735768.
- Marinho-Soriano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A., Moreira, W.S.C. (2006). Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. *Bioresource Technology*. 97:2402–2406.
- Oğur S. (2016) Kurutulmuş alglerin besin değeri ve gıda olarak kullanımı. *Ege su ürünleri ve balıkçılık dergisi*. 33(1):67-79.
- Patton, T., Barrett, J., Brennan, J., Moran, N. (2005) Use of a Spectrophotometric Bioassay for Determination of Microbial Sensitivity to Manuka Honey, *J Microbiol Methods*. 64(2006):84-95.
- Peksezer, B., Alp, M.T., Ayas, D. (2021) The Economic Importance of Macroalgae. *Advanced Underwater Sciences*. 1(1): 21-26.
- Ragunathan, V., Pandurangan, P., Ramakrishnan, T. (2019) Gas Chromatography-mass spectrometry Analysis of Methanol Extracts from Marine Red Seaweed *Gracilaria corticata*. *Pharmacogn J*. 11(3):547-554.
- Shafay, S. M., Ali, S.S., Sheekh, M. M. (2016) Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bacteria. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 42:65-74.
- Taşçı, A.Y. (2020) *Sargassum vulgare*'den elde edilen sekonder metabolitlerin yapılarının aydınlatılması ve sitotoksik, antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi, Yüksek lisans tezi, Bezmialem Vakıf Üniversitesi, İstanbul, Türkiye.
- Turna, İ.İ., Durucan, F., Kuşat, M. (2012) Çayağzı Deresi'nin (Antalya) ekonomik yeşil algleri konusunda bir ön çalışma. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*. 8(1):57-62

Teleskop (*Carassius Auratus*) Balığında *Ichthyophthirius Multifiliis* (Fouget, 1876) Enfeksiyonu

Cafer Erkin Koyuncu 

Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü, Hastalık ABD., Mersin, Türkiye
e-mail: ekoyuncu@mersin.edu.tr

ÖZET

Bu çalışma, Mayıs-Temmuz 2021 tarihleri arasında Mersin’de bir akvaryum çiftliğinde yetiştirilen teleskop balıklarında (*Carassius auratus*) ani ölümlerin nedeninin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Balıkların bu ani ölümlerin nedeninin belirlenmesi için deri ve yüzgeç dokularından örnek alınmış ve ölüm nedeninin *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora: Ichthyophthiriidae) parazitinden kaynaklandığı belirlenmiştir. Ayrıca parazitin morfolojik özellikleri ve balıklardaki semptomları belirlenmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: Teleskop balığı, *Ichthyophthirius multifiliis*, Semptom, Mortalite

Ichthyophthirius Multifiliis (Fouget, 1878) Infection in Telescope Goldfish (*Carassius Auratus*) Culture

ABSTRACT

This study was carried out to determine the cause of sudden death in telescope gold fish (*Carassius auratus*) raised in an aquarium farm in Mersin between May-July 2021. In order to determine the cause of these sudden deaths, samples were taken from the skin and fin tissues of the fish and it was determined that the cause of death was caused by the parasite *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora: Ichthyophthiriidae). In addition, the morphological features of the parasite and its symptoms in fish were determined.

KEYWORDS: Telescope Goldfish (*Carassius auratus*), *Ichthyophthirius multifiliis*, symptoms, mortality

How to cite this article: Koyuncu, C.E. (2022) Teleskop (*Carassius Auratus*) Balığında *Ichthyophthirius Multifiliis* (Fouget, 1876) Enfeksiyonu. *MedFAR.*, 5(2):65-70

1. Giriş

Dünyada olduğu gibi Türkiye’de de akvaryum balığı yetiştiriciliği hızla gelişmektedir. Akvaryum balığı üreten çiftlikler ve akvaryumcuların sayısında önemli artışlar olmuştur. Mersin ili akvaryum balığı üretiminde ülkemizde önde gelen yerlerden birisidir. Özellikle son yıllarda kurulan akvaryum balık çiftliklerinin sayısında hızlı bir artış olmuş ve su ürünleri yetiştiriciliğinde ilerleyen bir sektör haline gelmiştir. Su ürünleri yetiştiriciliğinin ve akvaryum balıkçılığının gelişmesi yanında, bazı sorunlarda ortaya çıkmaktadır. Bu sorunlarda yer alan en önemli etkenlerden birisi de parazitlerin neden olduğu hastalıklar gelmektedir.

Akvaryum balıklarının parazitler hastalıkları arasında önemli parazitlerden biriside 'Beyaz benek hastalığı' veya 'Ich hastalığı' olarak adlandırılmaktadır. Kültür balıklarında, akvaryum balıklarında ve yabani balıklarda görülmektedir (Nigrelli vd., 1976). Hastalığın etkeni, siliat bir protozoon olan ektoparazit *Ichthyophthirius multifiliis*'tir. Etken Oligohymenophorea sınıfında ve *Ichthyophthirius* cinsinde yer alan tek türdür (Canella vd., 1976). Beyaz benek akvaryum balığı yetiştirilen her yaş ve boydaki balıklarda enfeksiyona neden olmaktadır. Parazit salgını sunucunda balıklarda ölüm oranı %100 'lere ulaşabilmektedir (Hoffman, 1999; Woo, 1995).

Beyaz benek dünyanın tüm kıtalarında ortalama 10-27 °C derecesinde olan su sıcaklığında görülür. Parazit şekilsel olarak daireseldir ve hareketi sağlayan silleri tüm yüzeye eşit olarak dağılmıştır. Parazitin karakteristik özelliği at nalı şeklindeki çekirdeği ve dönme hareketinden oluşmaktadır. Zorunlu bir patojendir ve enfeksiyonun hızla yoğunlaşmasına izin veren benzersiz bir doğrudan yaşam döngüsüne sahiptirler. Yaşam döngüsü enfektif bir parazitik olan the-

ront, trofont ve tomitlerden oluşmaktadır (Geisslinger, 1987). Parazit balıkların solungaç filamentleri deri ve yüzgeçlerin epidermis tabakasına penetre olmaktadır. Epidermis tabakasında yerleşen parazit oluşan beyaz renkli veziküllerin içerisinde gelişmesine ve konakçının dokusu ile beslenme devam eder (Nigrelli vd., 1976; Lom vd., 1992; Matthews, 2005). Enfekte balıklar son derece uyuşuktur ve görünür beyaz lekelerle kaplıdır. Beyaz benegin neden olduğu şiddetli enfeksiyon sonucunda balıkların solungaçları zarar görürler. Bunun sonucunda solunum, boşaltım ve osmoregülasyon fonksiyonlarında ciddi kayba neden olurlar ve sonunda balık ölümüne yol açabilirler (Hines vd., 1974; Woo, 1995).

Tüm dünyada parazit kozmopolit bir türdür. Parazit akvaryum balığı popülasyonlarında bir çok faktörlerin etkisi ile salgınlara ve ölümlere neden olmaktadır. Parazit, salgının olmadığı zamanlarda balık popülasyonlarında hafif düzeyde beklemektedir. Akvaryum balıkları işletmelerinde yoğun stoklama ve barındırma, stres koşulları (su sıcaklığı, düşük oksijen seviyesi, suyun kimyasal kirliliği, havuzların dezenfeksiyonu vb.) parazit hastalığının seyrini olumsuz yönde etkileyip, enfeksiyonun hızlı bir şekilde yayılmasına ve hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Ogut vd., 2005; Aydın vd., 2017).

Bu çalışma, ticari bir akvaryum balık çiftliğinde yetiştiriciliği yapılan ve değerli bir balık olan teleskop balıklarında (*Carassius auratus*) görülen bu ani ölüm nedeninin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışma sonucunda balıkların ölmesinin ana etkenin *Ichthyophthirius multifiliis* paraziti olduğu belirlenmiştir. Ayrıca parazit istilasının neden olduğu semptomlar ele alınmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Akvaryum balığı bulunan tesiste toplam 10 adet havuz bulunmaktadır. İşletmedeki havuz sularının oksijen içeriği (mg/L), sıcaklık (°C) ve pH değerleri (Orbego-Hellige) marka su parametresi ölçeri kullanılarak yapılmıştır. İşletmede bulunan 10 adet havuzun her birinden 10'ar adet olmak üzere toplam 100 adet Teleskop balığı tanklara alınmıştır. Daha sonra balıkların ağırlıkları ve uzunlukları ölçülmüştür. Hasta balıkların deri ve yüzgeç dokularından kazınarak belirlenen mukus örnekleri işletmede mikroskop altında incelenmiş ve kalıcı preparat yapılmıştır.

3. Bulgular

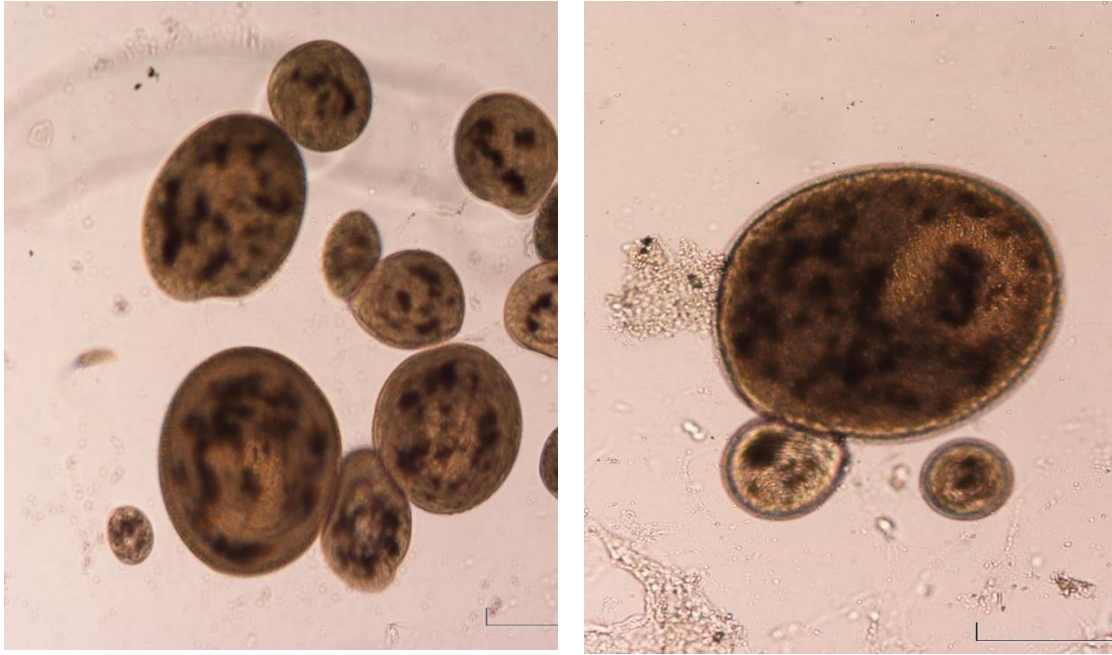
İşletmenin havuzlarında parazit enfestasyonu süresince ölçülen suyun çözünmüş oksijen miktarının ortalama değeri 4,3-4,8 mg/L, su sıcaklığının 25-27,5 °C ve pH'nın 7-7,8 arasında değişim gösterdiği belirlenmiştir. İşletmedeki havuzlarda bulunan balıklarda yapılan dış klinik muayenesinde, balıkların yavaş hareket ettikleri, havuz köşelerinde bekledikleri ve sert cisimlere sürtündükleri gözlenmiştir. Enfeksiyonun ilerlemesi ile balıkların yüzgeçlerinde renklerin solduğu ve erimeler tespit edilmiştir. Ayrıca deri bölgesinde kızarıklar ve hemorajik alanlar olduğu ve bunun sonucunda yaraların meydana geldiği görülmüştür. Özellikle yavru ve zayıf balıklarda ölümler meydana geldiği saptanmıştır.

İşletmeden canlı olarak laboratuvara getirilen hasta balıklardan yapılan incelemede, balıkların solungaçlarında yüzgeçlerinde ve

derilerinde çok sayıda parazite rastlanmıştır. Araştırmada süresince incelenen 100 adet balığın tamamının parazit ile enfeste olduğu belirlenmiştir. İşletmeden canlı olarak laboratuvara getirilen hasta balıkların solungaçların yüzgeçlerinin ve vücut yüzeyinin morfolojik incelemesinde, beyaz ve gri lekelerin bulunduğu ve özellikle balıkların derisinde mukus miktarında artış gözlemlenmiştir. Balıkların derisinin beyaz benekli bölgelerinden hazırlanan taze preparatların mikroskop altında yapılan incelenmesinde bariz at nalı- makro çekirdekli trofont ve oval armut biçimli tomitler görülmüştür. Ayrıca mikroskop altında yapılan ölçümlerde erişkin parazit bireylerin ortalama 0,8-1 mm ölçütlerde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Parazitin bu özelliklerden dolayı balıklardaki hastalığın nedeninin beyaz benek olduğu belirlenmiştir.

derilerinde çok sayıda parazite rastlanmıştır. Araştırmada süresince incelenen 100 adet balığın tamamının parazit ile enfeste olduğu belirlenmiştir.

İşletmeden canlı olarak laboratuvara getirilen hasta balıkların solungaçların yüzgeçlerinin ve vücut yüzeyinin morfolojik incelemesinde, beyaz ve gri lekelerin bulunduğu ve özellikle balıkların derisinde mukus miktarında artış gözlemlenmiştir. Balıkların derisinin beyaz benekli bölgelerinden hazırlanan taze preparatların mikroskop altında yapılan incelenmesinde bariz at nalı- makro çekirdekli trofont ve oval armut biçimli tomitler görülmüştür. Ayrıca mikroskop altında yapılan ölçümlerde erişkin parazit bireylerin ortalama 0,8-1 mm ölçütlerde olduğu tespit edilmiştir (Şekil 1). Parazitin bu özelliklerden dolayı balıklardaki hastalığın nedeninin beyaz benek olduğu belirlenmiştir.



Şekil 1. Teleskop balığın derisinden hazırlanan *Ichthyophthirius multifiliis* parazitinin preparat görüntüsü (Not: C şeklinde at nalı nucleus) Scala =0,5 mm

4. Tartışma

Tatlı su ekosisteminde yaşayan balıklarda çok tehlikeli bir hastalık olan Ichthyophthiriosis çok eski zamanlardan beri bilinmektedir. Özellikle akvaryum balıklarında çok sık rastlanan beyaz benek hastalığı farklı coğrafi bölgelerden çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Koyuncu, 2022).

Beyaz benek enfeksiyonlarının balık yetiştirme işletmelerinde önemli zararlara neden olduğu bilinmektedir. Parazit, balığın mukusu ve deri dokusuyla beslenir. Solungaçlara bulaşan ve yerleşerek parazit burada balığın solunum etkinliğini azaltır. Bu balıkların sudaki oksijeni elde etmesi daha fazla zorlaşır ve oksijen tüketimi düşük seviyelere geldiğinden daha az dayanıklı olurlar. Balıkların yüzgeçlerinde erime, derisinde kızarıklık, peteşiyal kanamalar ve yaralar görülmektedir. Ayrıca sekonder olarak bakteriyel ve fungal enfestasyonlara neden olduğu için su ürünleri yetiştiriciliğinde önemli kayıplara neden olabilir (Woo, 1995). Yapılan bu çalışmada ise balıklarda iştahsızlık, yüzme bozuklukları, solungaç lamellerinin ve yüz-

geçlerin renklerinin solduğu, eridiği, deri bölgesinde kızarıklar ve hemorajik alanlar oluşturan klinik semptomlar kaydedilmiştir. Ayrıca balıkların derisinde derin yaraların meydana geldiği görülmüştür. Paraziti yoğun istilası sonucunda hastalığın sonraki aşamalarında balıklarda ölüm görülmüştür.

Beyaz benek enfeksiyonları ile birlikte balıkların deri ve solungaçlarında birçok ektoparazitlerinde tespit edildiği birçok çalışmada bildirilmiştir (Nigrelli vd., 1976; Lom vd., 1992). Yapılan bu çalışmada ise başka bir parazit etkeninin varlığına rastlanmamıştır.

Enfeksiyonun ortaya çıkmasında ve salgınlar sonucu mortalitenin şekillenmesinde su sıcaklığı çok önemlidir. Parazitin yaşam döngüsü ile su sıcaklığı arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır. Özellikle ilkbahardan yaza geçişte enfeksiyon artmaktadır (Kabata, 1985; Ogut vd., 2005; Öztürk vd., 2010; Aydın vd., 2017). Yapılan bu çalışmada ise, yüksek sıcaklığın görüldüğü Temmuz ayında parazit enfeksiyonunun yoğun bir şekilde

arttığı ve balıklarda ölümlere neden olduğu belirlenmiştir.

Parazit tüm dünyada yaygın kosmopolit bir türdür. Bu parazitin yaygınlığına birçok faktör sorumlu olabilir. Bunlar, uygun olmayan su sirkülasyonu, yetersiz su temini, yetersiz tank temizleme ve dezenfeksiyonu suyun arıtılmadan yeniden kullanılması gibi faktörlerdir (Aydın vd., 2017). Yapılan bu araştırmada işletmede su kalitesinin ve sı-

5. Sonuçlar

Dünyada her yıl balık çiftliklerinde beyaz benek hastalığı milyonlarca dolar zarara neden olmaktadır. Ülkemizde hastalığın neden olduğu ekonomik zararın miktarının ne olduğu bilinmemekle beraber işletmelerin üretim potansiyeline zarar verdiği bilinen bir gerçektir.

Akvaryum balığı yetiştiriciliğinde beyaz benek enfeksiyonun ortaya çıkmasında ve salgınlar sonucu mortalitenin şekillenmesinde su sıcaklığı çok önemlidir. Parazitin yaşam döngüsü ile su sıcaklığı arasında yakın

caklığın kontrol edilmesi, optimum besleme, havuzların bakımı ve atıkların uzaklaştırılması ve paraziter ilaçlar gibi önlemler önerilmiş ve beyaz benek istilasının azaldığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada, Mersin'de ticari bir akvaryum balık çiftliğinde teleskop balıklarında ani ölümlere neden olan ana etkenin *Ichthyophthirius multifiliis* ektoparazitinden kaynaklandığı tespit edilmiştir.

bir ilişki bulunmaktadır. Enfeksiyon genellikle su sıcaklığının artmasına bağlı olarak özellikle ilkbahardan yaz aylarına geçişte patlak verir. Bu yüzden bahardan yaza geçiş aylarında akvaryum balığı yetiştiricilik sektörünün beyaz benek enfeksiyonlarına karşı gerekli önlemleri alınması ve ekonomik kayıpları engellemek açısından mevcut çalışma bulgularının faydalı olacağı düşünülmektedir

Kaynaklar

- Aydın, C., Pekmezci G.Z. (2017) Tatlı Su Balıklarının *Ichthyophthirius multifiliis* Enfeksiyonunda Aşı Çalışmaları. Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi 28 (1): 23-27.
- Bauer, O.N. (1959) The ecology of parasites of freshwater fish. In; Parasites of Freshwater Fishes and the Biological Basis for their Control. Izv. Gos. NauchnoIssled. Inst. Ozern. Rechn. Rybn. Khoz., 44. (translated from Russian by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1962), 3-215.
- Canella, M.F., Rocchi-Canella, I. (1976) Biologie des Ophryoglenina (cilies hymenostermes, histophages). Annals of the University of Ferrara (N.S. Sect. 111) 3 (Suppl. 2): 1-510.
- Geisslinger, M. (1987) Observations on the caudal cilium of the tomite of *Ichthyophthirius multifiliis* Fouquet 1876. Journal of Protozoology 341:180-182.
- Hines, R.S., Spira, D.T. (1974) Ichthyophthiriasis in mirror carp *Cyprinus carpio* (L.). III. Pathology, Journal of Fish Biology, 6: 189-196.
- Hoffman, G.L. (1999) Parasites of North American freshwater fishes. Second edition. Ithaca (NY): Comstock Publishing Associates, Cornell University Press. 539.

- Kabata, Z. (1985) Parasites and Diseases of fish cultured in the Tropics. Taylor & Francis (Eds.), London: 1-318.
- Koyuncu, C.E. (2022) *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet, 1878) Infection in Koi (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758) Culture. Advanced Underwater Sciences 2(2): 37-39.
- Lom, J., Dyková, I. (1992) Protozoan Diseases of Fishes. Elsevier, New York. 315 pp.
- Matthews, R.A. (2005) *Ichthyophthirius multifiliis* fouquet and ichthyophthiriosis in freshwater teleosts. Advances in parasitology 59: 159-241.
- Matthews, R.A. (1994) *Ichthyophthirius multifiliis*, Fouquet, 1876: Infection and protective response within the fish host. In: Pike, A.W., Lewis, J.W. (Eds.), Parasitic Disease of Fish. Samara Publishing, Tresaith,. LJK, pp. 17-42.
- Nigrelli, R.F., Pokorny, K.S., Ruggieri, G.D. (1976) Notes on *Ichthyophthirius multifiliis*, a ciliate parasitic on freshwater fishes, with some remarks on possible physiological races and species. Transactions of the American Microscopical Society 95: 607 -613.
- Ogut, H., Akyol, A., Alkan, M.Z. (2005) Seasonality of *Ichthyophthirius multifiliis* in the Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Farms of the Eastern Black Sea Region of Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 5:23-27.
- Öztürk, T., Özer, A., Ünsal, G. (2010) *Ichthyophthirius multifiliis* Üzerine Bazı Terapötiklerin İn Vitro Etkisi. Journal of Fisheries Science 4(3):209-215.
- Woo, P.T.K. (1995) Fish diseases and disorders. CAB. International, 200-202.



Mersin University
Faculty of Fisheries
medfar@mersin.edu.tr