

Farklı İşletmelerdeki Gökkuşuğu Alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) Lizozim Aktivitelerinin Karşılaştırılması

Cafer BULUT^{1*}, Ayşegül KUBİLAY²

¹Eğirdir Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü – Eğirdir / ISPARTA

²Süleyman Demirel Üniversitesi, Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Yetiştiricilik Bölümü – Eğirdir / ISPARTA

Alınış tarihi:12.04.2010, Kabul tarihi:28.07.2010

Özet: Lizozim spesifik olmayan bağışıklık sisteminin en önemli humoral faktörlerinden biridir. Bakteriyel enfeksiyonlara karşı balıkların savunma sisteminde önemli rol oynar. Bu çalışmada farklı işletmelerdeki gökkuşuğu alabalıklarının serum lizozim aktivitesi üzerine su kalitesi parametreleri ve balık ağırlığının etkisi incelenmiştir. Mart-Mayıs 2008 tarihleri arasında Isparta'nın Aksu, Aşağıgökdere ve Çukurköy'deki 3 farklı gökkuşuğu alabalığı işletmesinde gerçekleştirilen çalışmada 90 adet gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) kullanılmıştır. Bu işletmelerdeki fiziksel ve kimyasal su kalitesi parametreleri ölçülmüştür. Balıklardan alınan kan örnekleri serumları çıkartıldıktan sonra diffüzyon agar metodu ile lizozim aktiviteleri tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda işletmelerin su kalitelerinin farklı ve balıklardan tespit edilen lizozim aktivitelerinde ki farklılığında önemli olduğu bulunmuştur (p<0,05). Aşağıgökdere ve Çukurköy'deki işletmelerde, balık ağırlığının artmasıyla birlikte lizozim aktivitelerinin de arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışma; su kalitesindeki değişimlerin lizozim aktivitesini etkileyebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Lizozim Aktivitesi, Diffüzyon Agar Metodu, Su Kalitesi

Comparative of Lysozyme Activites of Rainbow Trout in Different Farms

Abstract: Lysozyme is one of the most important humoral factors of non-specific immune system. It plays an important role in the defence system of fish against bacterial infections. In this study, rainbow trout in different business activities of the serum on lizozim some water quality parameters were investigated and the effect of fish weight. Ninety rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were used. The rainbow trouts were obtained from three different fish farms at Aksu, Aşağıgökdere, Çukurköy- Isparta, in March-May 2008. Physical and chemical paremeters of water quality were measured in this fish farms. Lysozyme content in blood serum was determined by using diffusion agar method. In conclusion, in the fish farms were found that water quality was different. Therefore serum lysozyme activity were shown significant changes in the samples (p<0,05). While fish weight increased, lysozyme activity enhanced in Aşağıgökdere and Çukurköy fish farms. This study showed that lyzosyme activity can effective due to changes in water quality.

Keywords: Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Lysozyme Activity, Diffusion Agar Method, Water Quality

Giriş

Bilindiği gibi balıklar da diğer omurgalı hayvanlar gibi mikroorganizmalarla dolu bir çevrede yaşamakta ve bunlara konakçılık yapmaktadır. Balıkların sağlıklı bir şekilde hayatlarını sürdürebilmeleri için her an karşı karşıya oldukları mikroorganizmalardan korunmaları gerekmektedir. Balıklar bu mikroorganizmalardan korunmak için gerekli savunma mekanizmalarına sahiptir (Ellis, 1988; Iwama ve Nakanishi, 1996; Mozumder, 2005). Bu savunma mekanizmaları yani immunité çok genel anlamda özellikle patojen mikroorganizmaların meydana getirdiği enfeksiyöz hastalıklara karşı vücudu koruma anlamına gelir. Vücudun, yabancı etkenlere karşı gösterdiği tepkilerin tümüne ise immün yanıt denir (Iwama ve Nakanishi, 1996; Yano, 1996).

Yetiştiricilik koşullarında balıkların genel kondüsyonuna, stres ve etkilerine bakarken fizyolojik parametreler yaygın şekilde kullanılmakta ve bu nedenle balıkların sağlığı ile ilgili bilgi edinmek amacıyla spesifik olmayan immunité bir çok balık türlerinde uzun yıllardır çalışılmaktadır. Balıklarda lizozim aktivitesi ile ilgili çalışmalarda son

yıllarda oldukça önem kazanmıştır (Wedemeyer, 1970; Walters ve Plumb, 1980; Gratzek ve Reinert, 1984; Peters vd., 1988; Möck ve Peters, 1990; Subbotkina ve Subbotkin, 2003; Conte, 2004; Huntingford vd., 2006).

Balıklarda immün sistem, spesifik olan ve olmayan olmak üzere 2'ye ayrılır. Lizozim enzimi ise, spesifik olmayan immün sisteminin en önemli humoral faktörlerinden biridir. Lizozim; *Micrococcus luteus* gibi Gram (+) bakterilerin hücre duvarındaki peptido-glukan tabakaları arasında bulunan N-asetil müramik asit ve N-asetil glukozamin arasındaki beta 1-4 bağlarını parçalayarak lizozime sebep olan, kitinle kaplanmış selüloz tarafından hazır bir şekilde absorbe edilen, düşük molekül ağırlığına sahip bir proteindir (Salton ve Ghuysen, 1959; Glynn, 1969; Neeman vd., 1974). Gram (-) bakteriler üzerine etkisi Gram (+) bakterilere göre daha azdır (Chipman ve Sharon, 1969; Iwama ve Nakanishi, 1996) Lizozim, yüksek sıcaklığa, asidik pH'a dayanıklı fakat alkali koşullarda çabuk inaktive olmakla birlikte bakteriyel enfeksiyonlara karşı balıkların savunma sisteminde önemli rol oynamaktadır (Hjelmeland

vd., 1983; Yano, 1996). Lizozim, balıklarda kan serumu, mukus, dalak, böbrek, karaciğer, deri, solungaçlar, kas, sindirim kanalı, ovaryum ve yumurtalarda, fagositik hücrelerde, lökosit ve makrofajlarda bulunmaktadır (Fletcher ve Grant, 1968; Ourth, 1980; Grinde, 1989; Holloway vd., 1993; Balfry ve Iwama, 2004; Karaaslan vd., 2007). Lizozim aktivitesi balıkların türlerine, su kalitesine, boy ve ağırlığına, sağlık durumlarına, stres, cinsiyet, mevsim, sıcaklık ve cinsi olgunluk durumuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Roed vd., 1993; Yano, 1996; Schrock vd., 2001; Caruso vd., 2002; Kubilay ve Uluköy, 2002).

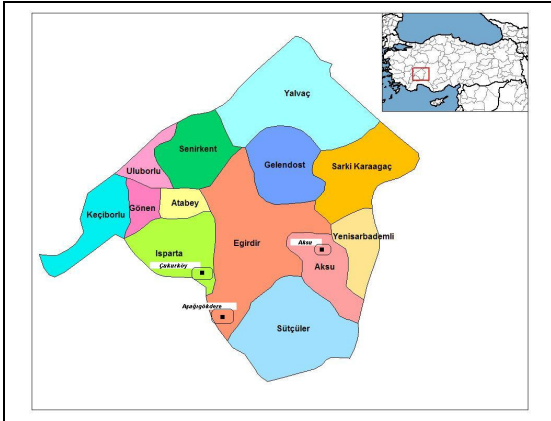
Balıkçılık aktiviteleri, balık sağlığı ve lizozim aktivitesi açısından su kalitesi ve bu kaliteye etki eden çevresel faktörlerin önemi büyüktür. Suların kirletilmesi sonucunda su kalitesi bozulmakta ve olumsuz yönde etkilenen balıkların sağlığı risk altına alınmaktadır (Bitgel, 1996). Su parametrelerindeki olumsuz değişiklikler ve su kirliliği balıklarda davranış ve fonksiyonel bozukluklara neden

olmaktadır. Kirletilmiş su, balık üzerinde toksik etki yapmasının yanında stres oluşturmasından dolayı da önem arz etmektedir. Oluşan strese bağlı olarak balık, enfeksiyon hastalıklarına karşı hassaslaşmakta, iştahı düşmekte, yem değerlendirme oranı ve gelişimi yavaşlamakta, üretim potansiyeli ve savunma mekanizması olumsuz etkilenmektedir. Toksik etkiler ve oluşan hastalıklar sonucu da toplu ölümler ortaya çıkmaktadır (Buhan, 1995).

Bu çalışmada, Isparta ilindeki 3 farklı işletmeden temin edilen gökkuşuğu alabalıklarındaki serum lizozim aktivitesinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma Mart-Mayıs 2008 tarihleri arasında Isparta'nın Aksu, Aşağıgökdere ve Çukurköy'de bulunan 3 farklı gökkuşuğu alabalığı işletmesinde gerçekleştirilmiştir (Şekil 1, 2, 3, 4).



Şekil 1. Isparta ilinde araştırmanın gerçekleştirildiği alabalık işletmeleri



Şekil 2. Aksu ilçesindeki işletme



Şekil 3. Aşağıgökdere köyündeki işletme



Şekil 4. Çukurköy köyündeki işletme

Su kalitesi parametreleri, 2008 yılı Mart, Nisan ve Mayıs aylarında işletmelerden incelemenin yapıldığı havuzlarda yerinde ve laboratuvarında yapılan ölçüm ve analizlerle tespit edilmiştir. Steril kahverenkli numune alma şişelerine laboratuvar ölçümleri için su numunesi alınmıştır. Su sıcaklığı, suyun pH'sı ve çözülmüş oksijen WTW marka multi arazi seti ile yerinde ölçülmüştür.

Fiziksel parametrelerden türbidite (bulanıklık) Hach marka türbidimetre ile laboratuvarında ölçülmüştür. Kimyasal parametrelerden organik madde; permanganat metodu ile titrimetrik tayinle tespit edilirken, orto-fosfat; phosphormolybdenum blue fotometrik tayinle; nitrit (NO₂); griess reaction fotometrik tayinle, nitrat (NO₃); 2,6-dimethyl phenol fotometrik tayinle, amonyum (NH₄) ve aniyonize amonyak (NH₃); indophenol blue fotometrik tayinle WTW Spectral Lab-12 spektrofotometre cihazı ile tespit edilmiştir (Atay, 1999; Standard methods, 2007).

Çalışmada kullanılan gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), 2008 yılı Mart, Nisan ve Mayıs aylarında Isparta Aksu, Aşağıgökdere ve Çukurköy'de bulunan 3 farklı işletmeden temin edilmiştir. Araştırmada toplam 90 adet gökkuşuğu alabalığı kullanılmıştır. Her işletmeden aylık 10 balık olacak şekilde 30'ar balık kullanılmıştır. Balıkların total boyları ve ağırlıkları ölçülmüştür ve ortalamaları alınmıştır.

Kan örnekleri alınacak balıklara önce anestezi olarak 15 mg/L tricaine methane-sulphonate (MS 222) uygulanmıştır (Pennell ve Barton, 1996). Balıkların kaudal venalarından 2 mL'lik enjektör yardımıyla kan örnekleri alınmıştır. Alınan kan örnekleri laboratuvarında +4 °C de bir gece bekletilmiş ve santrifüjde 3000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serumları elde edilmiştir. Serumlar -20°C'de lizozim aktivitesi belirlenene kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

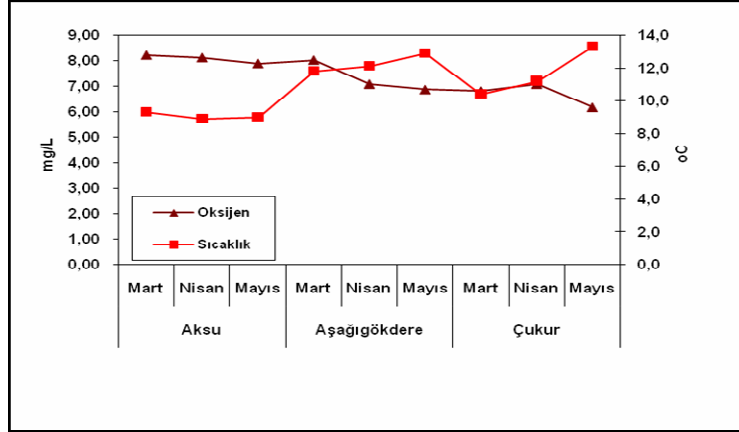
Lizozim aktivitesini belirlemek amacıyla diffüzyon agar (agar plate, lysoplate) metodu Ellis, 1996'e göre yapılmıştır. Test ortamı; fosfat buffer saline (PBS) içine % 0,5 agar ve % 0,12 g liyofilize *Micrococcus luteus* (Sigma M 3770) eklenerek ve pH'sı 6,2'ye ayarlanarak hazırlanmıştır. Ortama 5 mm çapında çukurlar açılmış ve serum örnekleri 25 µl olacak şekilde çukurlara ilave edilmiştir. Petriler 36 °C'de 20 saat inkübe edildikten sonra çukurların etrafında oluşan zonların çapları ölçülmüştür. Test numunelerindeki lizozim miktarını belirlemek için standart olarak Hen egg white lizozim (HEWL; Merck EC 3.2.1.27) kullanılmıştır.

Denemelerde elde edilen verilerin istatistiki değerlendirilmesi SPSS 15.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Bütün verilere varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve grup ortalaması arasındaki farklılıklar JUMP

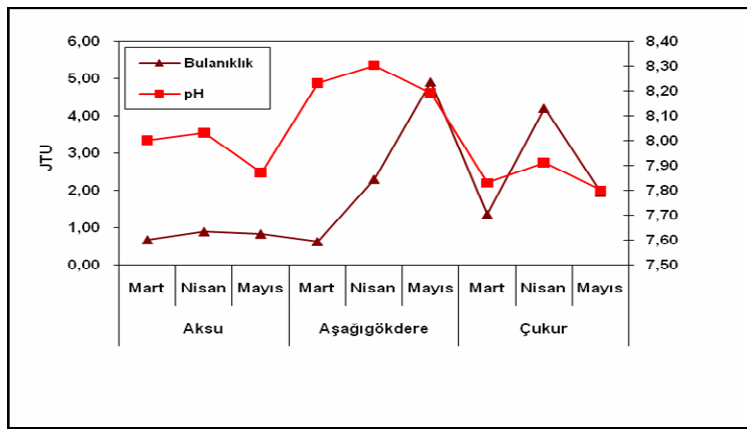
8.0 paket programı LS Means Student's T testi ile çoklu karşılaştırma testine göre belirlenmiştir. Önem seviyesi olarak p<0,05 kullanılmıştır.

Bulgular

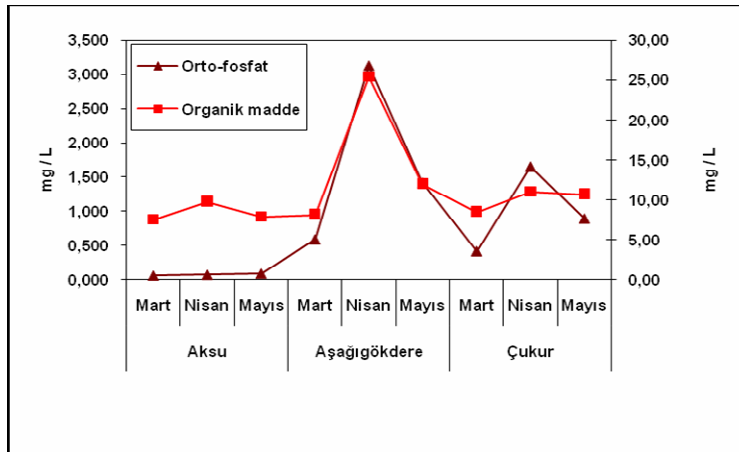
Yapılan su kalitesi parametreleri sonucunda, su sıcaklığı Aksu'daki işletme de ortalama 9.0 °C (8,9-9,3 °C) olarak ölçülmüş olup kaynak suyu kullanması nedeniyle sıcaklık verilerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. Aşağıgökdere ve Çukurköy'de bulunan alabalık işletmeleri akarsu kullanmaları nedeniyle su sıcaklığında mevsimsel değişimlere bağlı olarak bir artış görülmüştür. Aşağıgökdere'de 12,3 °C (11,8-12,9 °C), Çukurköy'de ise 11,7 °C (10,4-13,3 °C) olarak tespit edilmiştir (Şekil 5). Çözülmüş oksijen, Aksu'daki işletmede ortalama 8.10 mg/L (7,90-8,20 mg/L), Aşağıgökdere'de 7,30 mg/L (6,85-8,00 mg/L) ve Çukurköy'de 6,67 mg/L (6,16-7,07 mg/L) olarak ölçülmüştür. Aşağıgökdere ve Çukurköy'deki işletmelerde Aksu'daki işletmeye göre daha düşük çözülmüş oksijen bulunmuştur (Şekil 5). pH, Aksu işletmesinde ortalama 7.96 (7,87-8,03), Aşağıgökdere işletmesinde 8.24 (8,19-8,30) ve Çukurköy işletmesinde de 7.84 (7,80-7,90) olarak ölçülmüştür (Şekil 6). Türbidite (bulanıklık), Aksu'daki işletmede ortalama 0,81 JTU (0,68-0,90 JTU), Aşağıgökdere'de 2,61 JTU (0,63-4,90 JTU) ve Çukurköy'de 2,50 JTU (1,36-4,20 JTU) olarak ölçülmüştür (Şekil 6). Organik madde, Aksu'daki işletme de ortalama 8.43 mg/L (7,59-9,58 mg/L), Aşağıgökdere'de 15,20 mg/L (8,22-25,38 mg/L) ve Çukurköy'de 10,11 mg/L (8,53-11,06 mg/L) olarak ölçülmüştür (Şekil 7). Orto-fosfat (O-PO₄), Aksu'daki işletmede ortalama 0,079 mg/L (0,064-0,095 mg/L), Aşağıgökdere'de 1,645 mg/L (0,591-3,125 mg/L) ve Çukurköy'de 0,891 mg/L (0,422-1,654 mg/L) olarak ölçülmüştür (Şekil 7). Amonyum (NH₄), Aksu'daki işletmede ortalama 0,159 mg/L (0,102-0,260 mg/L), Aşağıgökdere'de 0,757 mg/L (0,360-1,312 mg/L) ve Çukurköy'de 0,538 mg/L (0,283-0,977 mg/L) olarak ölçülmüştür (Şekil 8). Aniyonize amonyak (NH₃), Aksu'daki işletmede ortalama 0,017 mg/L (0,010-0,023 mg/L), Aşağıgökdere'de 0,0151 mg/L (0,0069-0,0266 mg/L) ve Çukurköy'de 0,0095 mg/L (0,0035-0,0142 mg/L) olarak ölçülmüştür (Şekil 8). Nitrit (NO₂), Aksu'daki işletmede ortalama 0,015 mg/L (0,012-0,017 mg/L), Aşağıgökdere'de 0,076 mg/L (0,029-0,102 mg/L) ve Çukurköy'de 0,036 mg/L (0,023-0,052 mg/L) olarak ölçülmüştür (Şekil 9). Nitrat (NO₃), Aksu'daki işletmede ortalama 1,54 mg/L (0,97-2,10 mg/L), Aşağıgökdere'de 3,00 mg/L (2,65-3,32 mg/L) ve Çukurköy'de 2,49 mg/L (1,97-2,90 mg/L) olarak ölçülmüştür (Şekil 9).

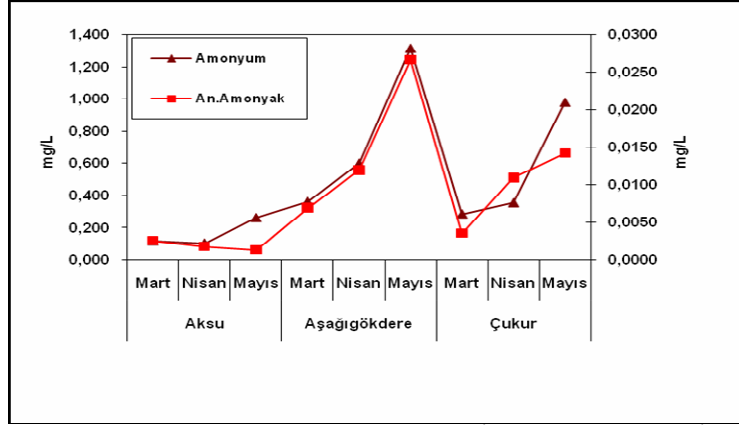


Şekil 5. İşletmelerdeki suyun çözülmüş oksijen ve sıcaklık değerleri

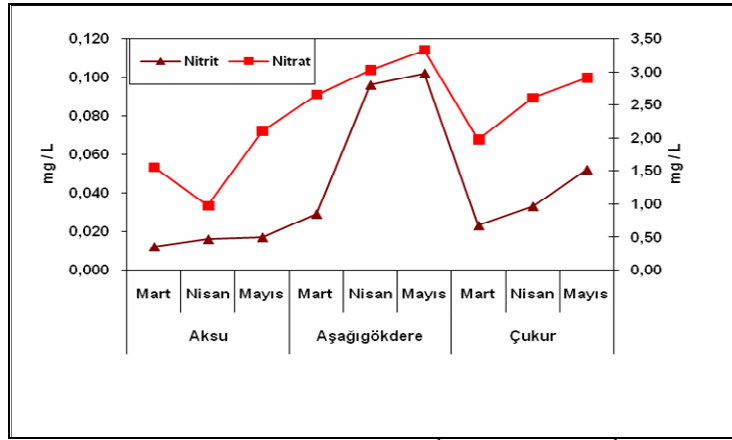


Şekil 6. İşletmelerdeki suyun pH ve bulanıklık değerleri

Şekil 7. İşletmelerdeki suyun orto-fosfat ($O-PO_4^{3-}$) ve organik madde değerleri



Şekil 8. İşletmelerdeki suyun amonyum (NH_4^{+1}) ve amonyak (NH_3^{+1}) değerleri



Şekil 9. İşletmelerdeki suyun nitrit (NO_2^{-1}) ve nitrat (NO_3^{-1}) değerleri

Yukarıda elde edilen veriler ışığında yapmış olduğumuz çalışma sonucunda üç işletmenin su kalitelerinin farklı olduğu belirlenmiştir. Aksu bölgesindeki işletme, kaynak suyu kullanarak yetiştiricilik yaparken Aşağıgökdere ve Çukurköy'deki işletmeler ise, akarsu kullanarak yetiştiricilik yapmaktadır. Aşağıgökdere'de bulunan işletme toprak havuzlarda, Çukurköy'deki işletme ise beton havuzlarda yetiştiricilik yapmaktadır. İşletmelerin yetiştiricilik tipleri farklı olduğu gibi su kaliteleri de farklıdır. Özellikle Aşağıgökdere'deki işletme ve Çukurköy'deki işletmelerde bulanıklık, organik madde ve kirlilik etkenlerinden orto-fosfat ve amonyağın yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Gökkuşuğu alabalığının lizozim aktivitesi, diffüzyon agar metodu uygulanarak zon çapları belirlenmiştir.

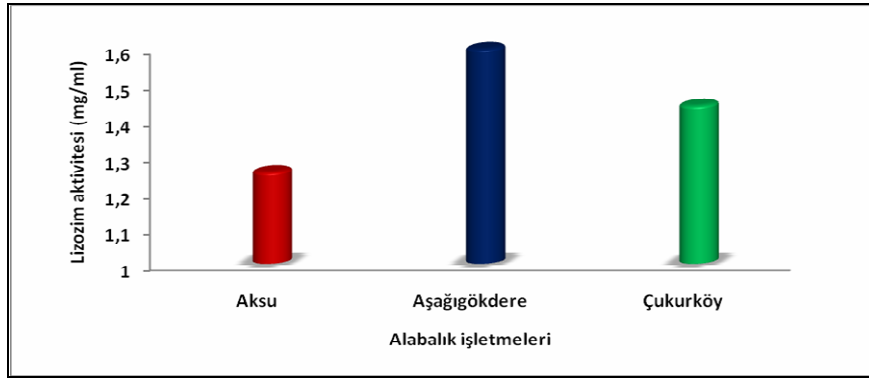
Test numunelerindeki lizozim miktarını belirlemek için standart olarak HEWL kullanılmış ve kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Elde edilen veriler istatistikî olarak hesaplanmış ve lizozim aktiviteleri arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 1. ve Şekil 10. de üç işletmeden elde edilen lizozim aktivitelerinin karşılaştırılma sonuçları, Çizelge 2. de Aksu'daki işletmeye ait lizozim aktivitelerinin istatistikî analiz sonuçları, Çizelge 3. de Aşağıgökdere'deki işletmeye ait lizozim aktivitelerinin istatistikî analiz sonuçları, Çizelge 4. de Çukurköy'deki işletmeye ait lizozim aktivitelerinin istatistikî analiz sonuçları verilmiştir.

Çizelge 1. Üç işletmeden elde edilen lizozim aktivitelerinin istatistikî karşılaştırılması ($\bar{X} \pm SD$)

Lizozim aktivitesi (mg/ml)	Ort. \pm S.E.
Aksu	1,254 \pm 0,025 ^c
Aşağıgökdere	1,596 \pm 0,040 ^a
Çukurköy	1,438 \pm 0,026 ^b

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistikî fark vardır. ($P < 0,05$)
S.E.: Standart Hata



Şekil 10. Üç işletmeden elde edilen ortalama lizozim aktivitelerinin karşılaştırılması

Çizelge 2. Aksu'daki işletmeye ait lizozim aktivitelerinin istatistiki analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SD$)

Lizozim aktivitesi (mg/ml)	Ort. \pm S.E.
Mart	1,388 \pm 0,019 ^a
Nisan	1,221 \pm 0,031 ^b
Mayıs	1,153 \pm 0,056 ^b
Genel	1,254 \pm 0,025

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiki fark vardır. (P<0.05)
S.E.: Standart Hata

Çizelge 3. Aşağıgökdere'deki işletmeye ait lizozim aktivitelerinin istatistiki analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SD$)

Lizozim aktivitesi (mg/ml)	Ort. \pm S.E.
Mart	1,416 \pm 0,064 ^b
Nisan	1,669 \pm 0,061 ^a
Mayıs	1,703 \pm 0,068 ^a
Genel	1,596 \pm 0,040

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiki fark vardır. (P<0.05)
S.E.: Standart Hata

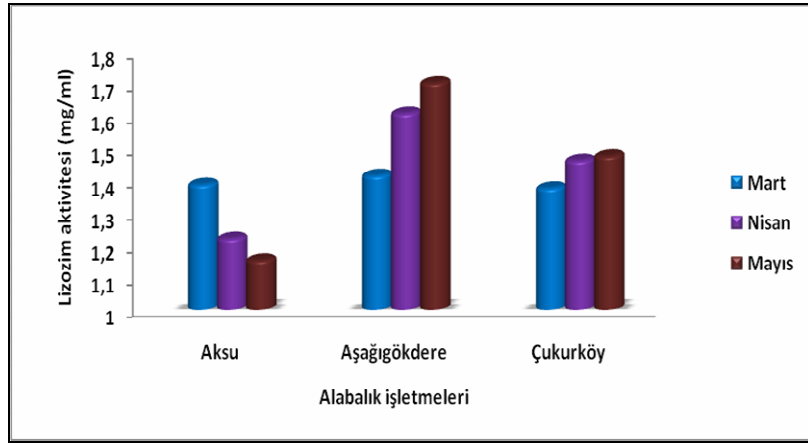
Çizelge 4. Çukurköy'deki işletmeye ait lizozim aktivitelerinin istatistiki analiz sonuçları ($\bar{X} \pm SD$)

Lizozim aktivitesi (mg/ml)	Ort. \pm S.E.	S.D.
Mart	1,377 \pm 0,024 ^a	0,109
Nisan	1,462 \pm 0,064 ^a	0,290
Mayıs	1,476 \pm 0,040 ^a	0,180
Genel	1,438 \pm 0,026	0,208

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiki fark vardır. (P<0.05)
S.E.: Standart Hata

Alabalık işletmelerinin lizozim aktiviteleri Mart, Nisan ve Mayıs aylarında karşılaştırıldığında gökkuşağı alabalıklarındaki bu aktivitenin işletmeler arasında farklı olduğu gözlenmiştir. Özellikle Mayıs ayında Aksu ile

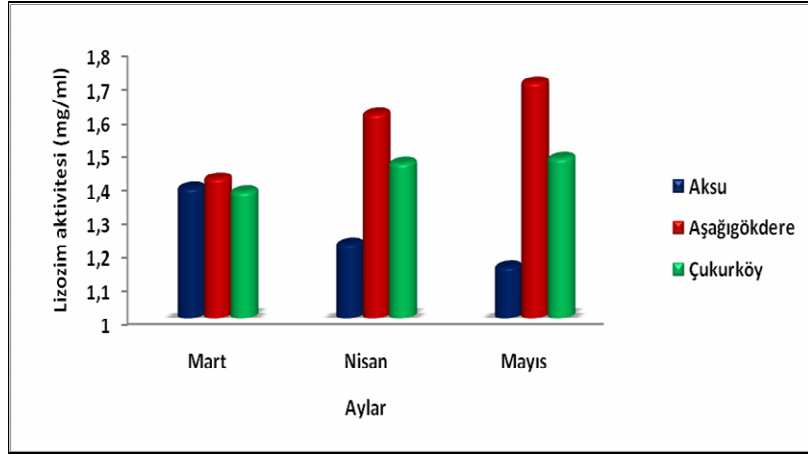
Aşağıgökdere işletmesi arasında önemli bir fark olduğu ve en yüksek lizozim aktivitesinin Mayıs ayında Aşağıgökdere'de yetiştirilen gökkuşağı alabalıklarında tespit edilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11. Alabalık işletmelerinin aylara göre lizozim aktiviteleri

Üç işletmeden elde edilen serum lizozim aktivitesinin aylara göre farklı değerlerde olduğu görülmüştür. Aksu işletmesinde lizozim aktivitesinin sırayla Mart, Nisan ve Mayıs aylarında azalma görülürken. Aşağıgökdere ve

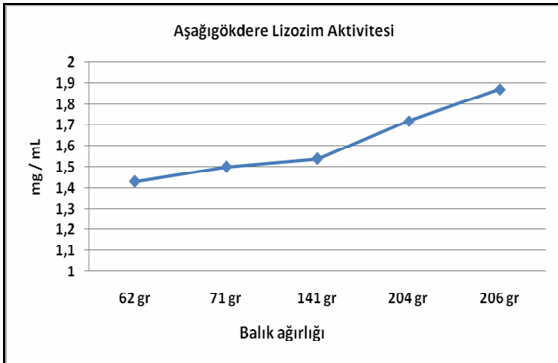
Çukurköy'deki işletmelerde ise lizozim aktivitesinin Mart, Nisan ve Mayıs aylarında artış gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. Aylara göre alabalık işletmelerinin lizozim aktiviteleri

Yaptığımız çalışmada işletmelerden alınan serum örneklerinde büyük balıklarda serum lizozim aktivitesinin küçük balıklara göre yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 13,

14). Balıklarda ağırlık artışına bağlı olarak lizozim aktivitesinin arttığı belirlenmiştir.



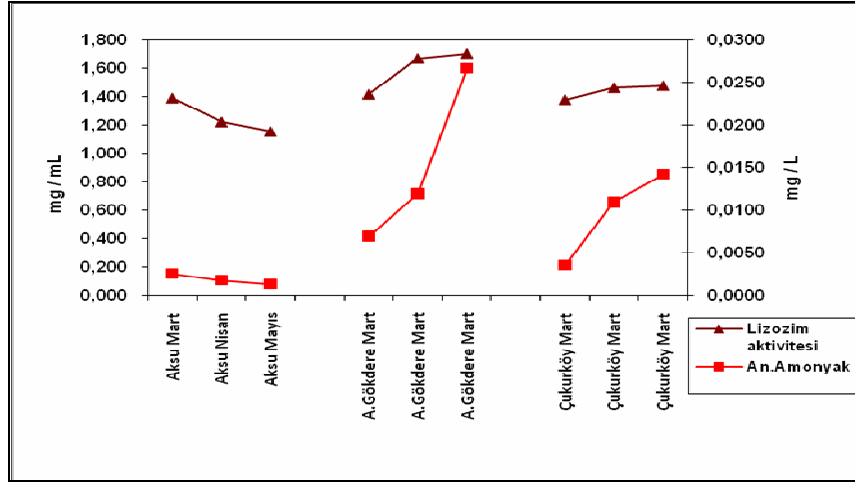
Şekil 13. Aşağıgökdere'deki işletmenin lizozim aktivitesi ile balık ağırlığı arasındaki ilişki



Şekil 14. Çukurköy'deki işletmenin lizozim aktivitesi ile balık ağırlığı arasındaki ilişki

Alabalık işletmeleri arasında lizozim aktivitesinin farklılığı; işletmelerde farklı su kaynaklarının kullanılması, yetiştiricilikte kullanılan antiseptik, dezenfektan ve kemateropotik maddelerin kullanım oranları ve su kalitesi

parametrelerine bağlı olarak değişiklik gösterdiği düşünülmektedir. Amonyanın, organik maddenin ve orto-fosfatın kirlilik göstergesi olduğu işletmelerde lizozim aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15. Alabalık işletmelerindeki sudaki amonyak ve lizozim aktivitesinin karşılaştırılması

Tartışma ve Sonuç

Dünyada ve ülkemizde protein ve gıda ihtiyacı gittikçe artmakla beraber yetiştiricilik çalışmaları da büyük bir artış göstermektedir. Bu bağlamda yetiştiricilik ile ilgili biyoteknolojik, genetik, mikrobiyolojik ve histopatolojik çalışmalar da gündem güne önem kazanmaktadır. Yetiştiricilik yapılan sistemlerde stres faktörleri balıkların sağlığını etkilemekte ve balıklarda daha çabuk hastalanmalara sebep olmaktadır (Conte, 2004; Ashley, 2006; Huntingford vd., 2006). Balıkların strese girmesi durumunda ise balığın fizyolojisinde önemli değişiklikler olmaktadır. Bu etkilerden en önemlisi serum kortizol ve serum glikoz seviyesinde ve stres faktörlerine bağlı olarak lizozim aktivitesinde farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir (Conte, 2004; Huntingford vd., 2006). Lizozim aktivitesi balıkların türlerine, sağlık durumlarına, stres, cinsiyet, mevsim, sıcaklık ve cinsi olgunluk durumuna bağlı olarak değişiklik gösterir (Roed vd., 1993; Schrock vd., 2001; Caruso vd., 2002). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre de balıkların farklı yetiştiricilik koşullarına ve ağırlıklarına bağlı olarak lizozim aktivitesinde farklılık tespit edilmiş, buda araştırmacıların belirttiği gibi balıkların sağlık durumları lizozim aktivitesini etkilediğini göstermektedir.

Üç farklı işletmeden alınan kan serumlarındaki ortalama lizozim aktivitesi seviyelerine bakıldığında; Aksu işletmesinde lizozim aktivitesi azalan bir değer gösterirken, Aşağıgökdere ve Çukurköy'de ise artan bir değer göstermiştir. Bunun sebebi olarak, işletmeler arasında farklı su kaynağının kullanılması ve balıkların sağlık durumları ve stres faktörlerinin etkisinin olduğu düşünülmüştür. Aşağıgökdere ve Çukurköy'de işletmelerde ise su kalite açısından özellikle Nisan ve Mayıs ayında havuzların

bulank oluşu, organik madde, orto-fosfat ve amonyum, amonyanın ve nitritin etkisinin balıklarda kronik strese neden olduğu, bunun da lizozim aktivitesini etkilediği düşünülmüştür. Amonyanın sudaki zehirleyici etkisi suyun pH'sına, sıcaklığına, balığın kondüsyonuna ve türüne göre değişmektedir. Bununla birlikte genel olarak dış ortamda yani suda NH₃ miktarı arttığı zaman balık vücudundaki amonyacı dışarı atamadığından balığın kanının pH derecesi yükselir. Böylece balığın vücudundaki enzimler çalışamaz hale geldiği bildirilmiştir (Özfuçucu, 1995). Sonuçta lizozim aktivitesinin düşmesine neden olmaktadır.

Möck ve Petters, 1990'da gökkuşuğu alabalıklarının naklinde ve atık su kirliliği tarafından oluşan strese serum lizozim seviyesinde belirgin bir azalma tespit etmişlerdir. Ancak bazı araştırmacılar yaptıkları çalışmalarda lizozim seviyesinin akut strese artış gösterdiğini, uzun süren ya da kronik strese ise azaldığı bildirmişlerdir (Fevolden vd.,1999; Kubilay ve Uluköy 2002).

İşletmeler arasında lizozim aktivitesinin farklılığı işletmelerde farklı su kaynaklarının kullanılması, alabalık çiftlikleri arası farklı stoklama yoğunluğu, hijyen, besleme gibi farklı yönetim şekilleri ve su kalitesi parametrelerine bağlı olarak değişiklik gösterdiği düşünülmektedir. Amonyanın, organik maddenin ve orto-fosfatın kirlilik göstergesi olduğu işletmelerde lizozim aktivitesinin arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 16). Bu da diğer araştırmacıların stres faktörlerinin lizozim aktivitesinin artmasına neden olduğunu bildiren çalışmaları ile paralellik göstermektedir (Demers ve Bayne, 1997; Fevolden vd., 1999; Kubilay ve Gülköy, 2002). Sularda bulunan fosfat iyonlarının fazla olması, su da istenmeyen alglerin fazla üremesine, aynı zamanda azotla beraber artışı sularda azot-fosfor dengesinin

bozulmasına neden olmakta ve bu değişimin de balıklarda strese neden olduğu düşünülmektedir.

Araştırmacılar balıklardaki lizozim aktivitelerine bakarak balıkların sağlık durumları hakkında bilgi sahibi olabilmekte ve gerekli önlemleri alabilmektedir (Conte, 2004; Ashley, 2006; Huntingford vd., 2006). Lizozim enzimi gökkuşuğu alabalıklarının zayıf oldukları ilk embriyo döneminde spesifik olmayan savunma mekanizmasından olduğu için önemlidir. Lizozim aktivitesinin çalışılıp belirlenmesi balıklarda direnç mekanizması açısından da oldukça önem arz etmektedir. Bu nedenle lizozim aktivitesinin balıklarda stres, sıcaklık, tür ve dokularda çalışılması ve etkilerinin belirlenmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Yaptığımız çalışma; farklı işletmelerdeki balıklarda su kalitesinin bozulması ve su yapısının farklı karakterde olması durumunda lizozim aktivitesinin etkilenebileceğini ve farklı seviyelerde olabileceğini göstermiştir. Bundan sonraki yapılacak çalışmalarda balıklarda kan parametrelerinin kortizol, serum glukoz, hematokrit, lizozim, lökosit gibi parametrelere aylık veya mevsimsel olarak bakmak suretiyle daha iyi sonuçlar elde edilmesi mümkün olacaktır.

Kaynaklar

- Ashley, P.J. 2006. Fish Welfare: Current Issues in Aquaculture. Applied Animal Behaviour Science, 104, 199–235. School of Biological Sciences, University of Liverpool, the Bioscience Building, Liverpool.
- Atay, R. 1999. Su Kalitesi ve Su Kirliliği Dersi Laboratuvar Notları. Eğirdir.
- Balfry, S.K., Iwawa, G.K. 2004. Observations on the Inherent Variability of Measuring Lysozyme Activity in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 138, 207-211.
- Bitgel, A. 1996. Balık Hastalıklarının Teşhisi İçin Örnek Alınması ve Gönderilmesi. Bornova Veteriner Kontrol Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Dergisi, İzmir, 165-172.
- Buhan, E. 1995. Çevre ve Balık Sağlığı. T.K.B. Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Yayınları, Bodrum/Muğla.
- Caruso, D., Schlumberger, O., Dahm, C., Proteau, J.P. 2002. Plasma Lysozyme Levels in Sheatfish (*Silurus glanis*, L.) Subjected to Stress and Experimental Infection with *Edwardsiella tarda*. Aquaculture Research, 33(12): 999-1008.
- Chipman, D.M., Sharon, N. 1969. Mechanism of Lysozyme Action Science. 165, 454-465.
- Conte, F.S. 2004. Stress and the Welfare of Cultured Fish. Applied Animal Behaviour Science. 86, 205–223.
- Demers, N.E., Bayne, C.J. 1997. the Immediate Effects of Stress on Hormones and Plasma Lysozyme in Rainbow Trout. Developmental & Comparative Immunology, 21(4): 363-373.
- Ellis, A.E. 1988. Ontogeny of the Immune System in Teleost Fish. In: Fish vaccination (Eds: A.,E.,Ellis). Academic Press, London. 20-31.
- Ellis, A.E. 1996. Lysozyme Assay. In Techniques in Fish Immunology (Eds: J.S. Stolen, T.C. Fletcher, D.P., Anderson, B.S. Roberson, W.B., Mulswink.). 101-103.
- Fletcher, T.C., Grant, P.T. 1968. Glycoproteins in the External Mucous Secretions of the Plaice, *Pleuronectes Platessa* and Other Fishes. Biochem. Journal, 106-112.
- Fevolden, S.E., Roed, K.H., Fjalestad, K.T., Stien, J. 1999. Post-stress Levels of Lysozyme and Cortisol in Adult Rainbow Trout: Heritabilities and Genetic Correlations. Journal of Fish Biology, 54, 900-910.
- Glynn, A.A. 1969. the Complement Lysozyme Sequence in Immune Bacteriolysis. Immunology, 16(4): 463-471.
- Gratzek, J.B., Reinert, R. 1984. Physiological Responses of Experimental Fish to Stressful Conditions. Natural Cancer Institute Monograph, 65, 187-193.
- Grinde, B. 1989. Lysozyme from Rainbow Trout, (*Salmo gairdneri*, Richardson) as an Antibacterial Agent against Fish Pathogens. Journal of Fish Diseases, 12, 95-104.
- Hjelmeland, K., Christie, M., Raa, J. 1983. Skin Mucus Protease from Rainbow Trout, (*Salmo gairdneri*, Richardson) and its Biological Significance. Journal of Fish Biology, 23, 13-22.
- Holloway, Jr.H.L., Shomaker, C. A., Ottinger, C.A. 1993. Serum Lysozyme Levels in Paddlefish and Walleye. Journal of Aquatic Animal Health, 5, 324-326.
- Huntingford, F.A., Adams, C., Braithwaite, V.A., Kadri, S., Pottinger, T. G., Sandoe, P. 2006. Current Issues in Fish Welfare. Journal of Fish Biology, 68, 332–372.
- Iwama, G., Nakanishi, T. 1996. the Fish Immune System Organism, Pathogen and Environment. Academic Press, USA. 378.

- Karaarslan, G., Kabak, T., Çakır, B., Kubilay, A. 2007. Gökkuşluğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın İç Organ, Kan Serum ve Döllenmiş Yumurtalarında Lizozim Aktivitesi. IV.Ulusal Su Günleri, Antalya.
- Kubilay A., Uluköy G. 2002. Effects of Acute Stress on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Turkish Journal of Zoology, 26, 249-254.
- Mozumder Mohammad, M.H. 2005. Master of Science International Fisheries Management. Antibacteriel Activity in Fish Mucus From Farmed Fish. Thesis (FSK-3910).
- Möck, A., Peters, G. 1990. Lysozyme Activity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Stressed by Handling, Transport and Water Pollution. Journal of Fish Biology, 37, 873-885.
- Neeman, N., Lahav, M., Ginsburg, I. 1974. the Effect of Leukocyte Hydrolases on Bacteria. II. the Synergistic Action of Lysozyme and Extracts of PMN, Magrophages, Lymphocytes, and Platelets in Bacteriolysis. The Society for Experimental Biology and Medicine Publishes Experimental Biology and Medicine, 146, 1137-1145.
- Ourth, D.D. 1980. Secretory IgM, Lysozyme and Lymphocytes in the Skin Mucus of the Channel Catfish (*Ictalurus punctatus*). Developmental & Comparative Immunology, 4(1): 65-74.
- Özfuçucu, G. 1995. Akuakültürde Su Kalitesinin Önemi. Su Ürünleri Yetiştiriciliği Semineri. Bodrum.
- Pennell, W., Barton, B.A. 1996. Principles of Salmonid Culture. Developments in Aquaculture and Fisheries Science. Vol:26, the Netherlands.
- Peters, G., Faisal, M., Lang, T, Ahmed, I. 1988. Stress Caused by Social Interaction and Its Effect on Susceptibility to *Aeromonas hydrophila* Infection in Rainbow Trout (*Salmo gaidneri*). Diseases of Aquatic Organisms , 4, 83-89.
- Roed, K.H., Fjalestad, K.T., Stromsheim, A. 1993. Genetic Variation in Lysozyme Activity and Spontaneous Haemoltic Activity in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 114, 19-31.
- Salton, M.R.J., Ghuysen, J.M. 1959. The Structure of Di- and Tetra-saccharides Released from Cell Walls by Lysozyme and Streptomyces F₁ Enzyme and the $\beta(1\rightarrow4)$ N-acetylhexosaminidase Activity of These Enzymes. International Journal of Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology, 36, 552-554. PMID: 13827779.
- Schrock, R.M., Smith, S.D., Maule, A.G., Doulos, S.K, Rockowski, J.J., 2001. Mucous Lysozyme Levels in Hatchery Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and Spring Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) Early in the Parr-smolt Transformation. Aquaculture, 198, 169-177.
- Standard Methods, 2007. Analysis Specifications for the Available Test Kits. WTW – Wissenschaftlich – Technische Werksätten GmbH, Weilheim, Germany.
- Subbotkina, T.A., Subbotkin, M.F. 2003. Lysozyme Content and Blood Serum in Various Species in the Volga River. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 39(5): 537-546.
- Walters, G.R., Plumb, J.A. 1980. Enviromental Stress and Bacterial Infection in Channel Catfish, (*Ictalurus punctatus*). Journal of Fish Biology, 17(2): 177-185.
- Wedemeyer, G. 1970. The Role of Stress in the Disease Resistance of Fishes. In A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes (Snieszko, S. F., ed.), pp.30-35. Washington. D.C., American Fisheries Society Special Publication 5.
- Yano, T. 1996. The Nonspecific Immune System: Humoral Defense. In: The Fish Immune System Organism, Pathogen and Environment. (Eds: G. Iwama and T. Nakanishi) Academic Press, USA, 106-110.