

Şekerciboyası (*Phytolacca americana*) ve Sodyum Hidroksit'in Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yumurtalarında Alternatif Dezenfeksiyon Uygulamaları^{1*}

Şevki KAYIŞ* Emre KANLI Zeynep Zehra İPEK Akif ER

¹Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize, Türkiye

 <https://orcid.org/0000-0002-9391-7613>,

 <https://orcid.org/0000-0001-6524-862X>

 <https://orcid.org/0000-0002-0052-5590>,

 <https://orcid.org/0000-0002-5916-1891>

Received date: 28.10.2019

Accepted date: 19.12.2019

Atf yapmak için: Kayış, Ş., Kanlı, E., İpek, Z.Z. & Er, A. (2019). Şekerciboyası (*Phytolacca americana*) ve Sodyum Hidroksit'in Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yumurtalarında Alternatif Dezenfeksiyon Uygulamaları. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(3), 560-564.

How to cite: Kayış, Ş., Kanlı, E., İpek, Z.Z. & Er, A. (2019). Alternative Disinfection Applications of American pokeweed (*Phytolacca americana*) and Sodium Hydroxide on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Egg. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(3), 560-564.

Öz: Bu çalışmada gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nin yeni döllenmiş ve gözlenmiş yumurtaları kullanılarak kuluçka döneminde meydana gelen kayıpların önlenmesi için alternatif dezenfektanlar denenmiştir. Bu amaçla, yumurtalar, 500 ml hacme sahip modifiye zuger şişelerinde 100 adet olacak şekilde inkübe edilmiştir. Beş farklı gruba ayrılan yumurtalara sirke, sodyum hidroksit (NaOH), formalin ve *Phytolacca americana* bitkisinin olgun meyvesinden elde edilen toz haline getirilmiş meyvelerinin farklı iki konsantrasyonu uygulanmıştır. Kontrol grubu oluşturulmuş ve tüm gruplar arasındaki farklılıklar tespit edilmiştir. Durgun su uygulaması ve sisteme sürekli taze su akışı sağlanan iki farklı uygulama yapılmış ve ışık geçirmeyen modifiye zuger şişeleri içerisinde yumurtalar alevin evresine gelene kadar takip edilmişlerdir. Sonuç olarak gökkuşığı alabalık yumurta inkübasyonunda NaOH uygulamasının ölümleri azaltıcı etkisinin olduğu, buna karşın diğer uygulamaların formalin uygulamasına alternatif olabilecek etkiye olmadığı gözlemlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Dezenfektan, gökkuşığı alabalığı, profilaksi, yumurta

Alternative Disinfection Applications of American pokeweed (*Phytolacca americana*) and Sodium Hydroxide on Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Egg

Abstract: In this study, the newly fertilized and eyed eggs of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) were used. Alternative disinfectants were tested to prevent egg loss during the incubation period. For this purpose, the eggs were incubated with 100 eggs in modified zuger bottles with a volume of 500 ml. Totally five different groups were used the study (two different concentration of vinegar, NaOH, formalin and a powder of fruits of (*Phytolacca americana*)). The control group was formed and the differences between these groups were determined. Two different applications were applied to the static application and continuous fresh water flow to the system and the eggs were followed until the phase of the alevin. The results showed that NaOH administration in rainbow trout egg incubation had a decreasing effect on mortality, whereas other applications were not effective as formalin.

Keywords: Disinfectant, egg, prophylaxis, rainbow trout.

GİRİŞ

Alabalıklar ülkemiz su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli payı oluşturmaktadır. Özellikle gökkuşağı alabalığı (*Onchorhynchus mykiss*) yetiştiriciliği yapılan diğer türlere nazarandaha fazla yaygındır. Gökkuşağı alabalığı yetiştiriciliği hakkında tüm dünya genelinde detaylı bilgi mevcuttur (Woynarovich vd., 2011; Emre & Kürüm, 2007).

Alabalık kuluçka sistemlerinde meydana gelen yumurta kayıplarının azaltılmasına yönelik çalışmalar sıklıkla rastlanmaktadır. Gerek yurt dışından transfer edilen gerekse ülkemiz sınırları içerisinde üretilen yumurtalardaki başlıca sorun, değişik patojenlerin varlığıdır (Kayış, 2019). Özellikle mantar enfestasyonları bu patojenler içerisinde önemli bir yer tutmaktadır. *Saprolegnia* sp. türleri sucul sistemde ciddi yaygınlığa sahiptir ve bu kayıpların sebebi olarak en öne çıkan grup olarak rapor edilmiştir (Lasee, 1995). Bu bağlamda, *Saprolegnia* cinsine ait *Saprolegnia parasitica*, *S. lapponica*, *S. ferax*, *S. hypogyna* ve *S. diclina* gibi 5 farklı mantar türünün alabalık yumurtalarında enfestasyon meydana getirdiği bildirilmiştir (Khosravi vd., 2010). Yine *Fusarium oxysporum*, *F. npsa*, *Fusarium* sp., *Penicillium citrinum*, *P. expansum*, *Aspergillus treuse*, *A. clavatus*, *Cladosporium* sp., *Alternaria* sp., *Helminthosporium* sp., ve *Pscilomyces* sp. alabalık yumurtalarında izole edilen mantar türleri olarak rapor edilmiştir.

Mantarlar dışında alabalık kuluçka sistemlerinde bakteriyel, paraziter ve viral patojenlere rastlamak da mümkündür. Özellikle viral patojenlerin meydana getirdiği kayıplar ve sonraki nesillere aktarılma problemi belki de en önemli sorunların başında gelmektedir (Balta & Dengiz Balta, 2018; Kayış, 2019).

Başta mantarlar olmak üzere patojenlere karşı alabalık kuluçka sistemlerinde kullanılan dezenfektan uygulamaları oldukça yaygındır. Bu uygulamalara konu olabilecek kimyasallara genel olarak, formaldehit (formalin, formol), iyodofor, ozon uygulamaları, hidrojen peroksit, malaşit yeşili, tuz ve asetik asit örnek verilebilir (Ural vd., 2011; Kanlı, 2019). Ancak mücadelede uygulanan her kimyasal ajanın avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle bu patojenlere karşı uygulamalara alternatif olabilecek yeni uygulama ve kimyasallara ihtiyaç duyulmaktadır. Gerçekleştirilen bu çalışmada, alabalık kuluçka sistemlerinde kullanıldığı bilinen kimyasal ve yöntemler dışında, antifungal özelliği olduğu bilinen şekeriboyası, *Phytolacca americana* (*P. americana*) (Phytolaccaceae) bitkisinin olgun meyvelerinin toz haline getirilmiş şekli ve NaOH, alabalık yumurtalarında iki farklı sistemde (statik ve akar sistem) kullanılmış, ayrıca yaygın kullanımı olan diğer kimyasallar ile kıyaslanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada kullanılan alabalık yumurtaları Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Su Ürünleri Uygulama ve

Araştırma Merkezi'nde bulunan, yetiştirme ünitesindeki gökkuşağı alabalıklarından (*Onchorhynchus mykiss*) elde edilmiştir. Yumurtalar tek bir dişi ve erkek anaçtan elde edilmiştir. Tedavi edici ajan olarak düşünülen maddeler, hem gözlenmiş hem de gözlenmemiş alabalık yumurtaları ile farklı deneme düzeneklerinde gerçekleştirilmiştir. Deneme öncesinde yumurtaların dezenfekte edilmesi amacıyla 1,65 mg/l formalin 15 dakika uygulaması yapılmıştır (Balta vd., 2008). Çalışmada diğer kullanılan kimyasallar ile kıyas amacıyla formalin kullanılmıştır. Bunun dışında, sodyum hidroksit (NaOH), asetik asit (Sirke) ve *P. americana* (şekeriboyası) bitkisinin meyvelerinden elde edilen tozun farklı dozları uygulanmıştır. *P. americana* bitkisinin meyveleri, 2017 yılının ağustos ayında, Trabzon ili Darıca mevkiinden elde edilmiştir. Meyveler saf su ile yıkanarak, çekirdekleri ile birlikte homojenize edilmiştir. Homojen malzeme 24 saat +4°C'de bekletilmiş, daha sonra 12 saat boyunca liyofilizatör cihazında toz haline getirilmiştir (Şekil 1). Çalışmada kullanılan kimyasallar ile ilgili bilgiler Tablo 1'de verilmiştir. Yine deneme suyuna ait bazı fiziksel ve kimyasal parametreler (Portatif pH ve sıcaklık ölçüm cihazı, Isolab Referans: 61601001) Tablo 2'de verilmiştir.



Şekil 1. *P. americana* (şekeriboyası) bitkisinin toz haline getirilme süreci ile ilgili görseller. Bitki meyvesi (A), meyvelerin tartım aşaması (B), homojen hale getirilen meyvelerin liyofilizatöre konulmadan önce petri kaplarına yerleştirilmiş ve üzere alüminyum folya ile kapatılmış hali (C), liyofilizatör ile toz haline getirme (D).

Tablo 1. Kullanılan kimyasallar, konsantrasyon ve pH değerleri.

Kimyasal	Stok çözelti Konsantrasyonları	Solüsyon pH değeri
Kontrol	-	6,8
NaOH	0,25 N	12,8
Asetik asit (Sirke)	35 ml/L	3,54
Formalin	4ml/L	8,4
<i>P. americana</i>	5gr/L	7,40
	10gr/L	7,42

Tablo 2. Denemede süresince kullanılan suyun fizikokimyasal özellikleri.

Su Kalite Parametreleri	Değerler
Sıcaklık	11,77-12,91°C
pH	6,8
Çözünmüş oksijen	11,3 mg/L
Amonyak (İyonize olmamış)	<0,01 mg/L
Nitrit	<0,01 mg/L
Nitrat	0,01 mg/L
Alkalinite	11 mg/L (CaCO ₃)
Toplam sertlik	120 mg/L (CaCO ₃)
CO ₂	1,5 mg/L

Gözlenmiş ve dezenfekte edilmiş yumurtalar 100 adet olacak şekilde her biri ışık geçirmeyen modifiye zuger şişesine yerleştirilmiştir. Her bir grup için (kontrol) 2 tekerrür olacak şekilde deneme düzeneği dizayn edilmiştir. Akar sistem olarak isimlendirilen bu denemede toplam 800 adet gözlenmiş yumurta kullanılmıştır.

İkinci olarak su akışı kesilerek uygulamada yine 800 adet yeni döllenen alabalık yumurtaları kullanılmıştır. Denemeler yumurtaların açılması ile (alevin evresine geçiş) sonlandırılmıştır ve hayvan deneyleri yerel etik kurulu ilkelerine uyulmuştur.

Akışlı sistem olarak isimlendirilen deneme NaOH, asetik asit ve formalin uygulaması yapılmıştır. Belirtilen solüsyonlar deneme süresince zuger şişelerinin su girişi yönünden olmak kaydıyla damlama yöntemiyle (30 damla/dakika) ilave edilmiştir (Şekil 2). Bu sistemde yumurtalara sürekli kimyasal ilavesi olacak şekilde bir müdahale olmuştur. Her grupta pH ve sıcaklık değerleri günlük olarak kontrol edilmiştir.



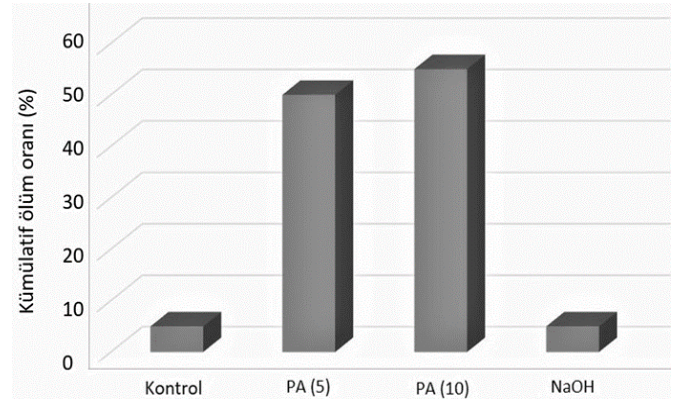
Şekil 2. Akar sistem deneme düzeneği, Yumurtaların inkübe edildiği zuger şişeleri ve şişelere deneme süresince eklenen pH düzenleyiciler, kimyasalların şişelere su girişinden eklenmesi akvaryum hortumları ve şırıngalar vasıtasıyla sağlanmıştır (beyaz ok ile gösterilmiştir).

İkinci uygulama olan, su akışı kesilerek yapılan uygulama da ise, düzenli su akışı olan kuluçka şişelerinin su akışı kesilerek kimyasal ilavesinin yapılması şeklinde olmuştur. Bu yöntemde, kimyasallar 5 dakika uygulanarak pH ölçümü anlık olarak yapılmıştır. Bu uygulamada belirtilen stok çözeltilerden 5 ml'lik miktarın, 500 ml'lik inkübasyon şişelerine ilave edilmesi şeklinde olmuştur. Kontrol grubuna

da 5 ml kuluçka suyu ilave edilerek gruplar arasında uygulama farklılığı elimine edilmiştir. Ardından su akışı tekrar sağlanmıştır. Bu şekilde ise, NaOH ve *P. americana* bitkisinin farklı iki dozları birer gün ara ile uygulamaya tabi tutulmuştur. Her iki denemede de mantarlaşma, yumurta ölümleri ve diğer olumsuz olabilecek bulgular kaydedilmiştir.

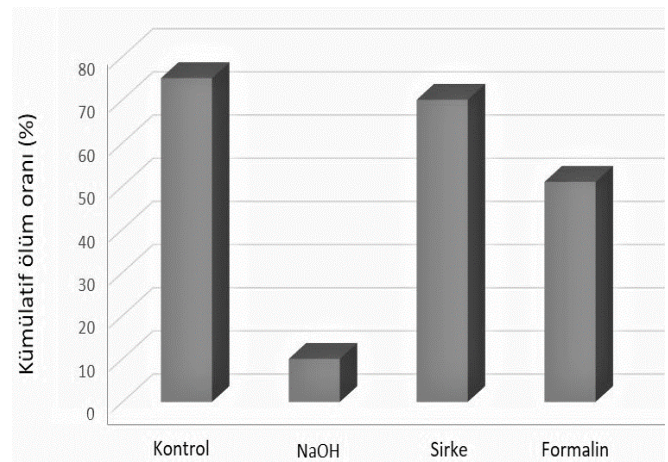
BULGULAR

Alabalık yumurtaları kuluçkalamada alternatif dezenfekte edici ajanların belirlenmesi amacıyla yapılan deneme çalışmalarında denenen maddelerin etkinliği, kontrol grubuna kıyasla diğer gruplardaki hayatta kalma oranı ya da kümülatif ölüm oranlarının tespiti ile belirlenmiştir. Buna göre su akışı kesilerek yapılan durgun sistem diye tanımlanan denemede *P. americana* bitki meyve tozunun (PA) iki farklı konsantrasyonu yumurtalar üzerinde negatif etki meydana getirmiştir. Doz arttıkça olumsuz etkinin de arttığı kaydedilmiştir. Sodyum hidroksit uygulamasında ise kontrol grubu ile bir fark oluşmamıştır (Şekil 3).



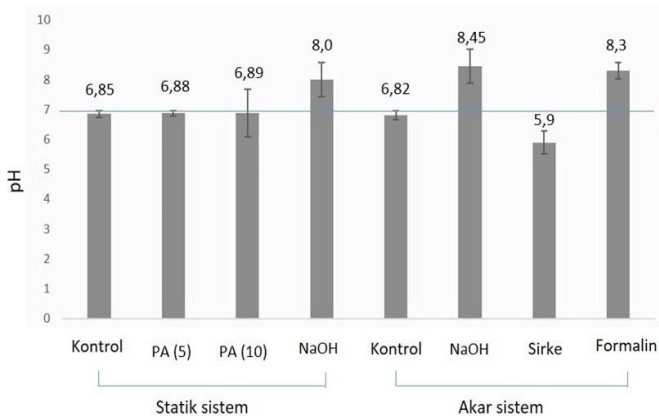
Şekil 3. Su akışı kesilen sistemde kontrol, iki farklı şekerciboyası dozu ve sodyum hidroksit gruplarında gözlenen kümülatif ölüm oranları.

Akar sistemde ise en iyi etki sodyum hidroksit grubunda gözlemlenmiştir. Özellikle mevcut sistemlerde yaygın kullanılan formalin ile kıyasla çok daha etkin bir hayatta kalma oranı kaydedilmiş, kontrol ve sirke (asetik asit) gruplarında önemli kayıplar meydana gelmiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Akışlı sistemde farklı kimyasal uygulamaları sonucu alabalık yumurtalarında kümülatif ölüm oranları.

Deneme gruplarında, her iki sistemdeki pH değerleri Şekil 5'te verilmiştir. Su sıcaklık değerleri ise alabalık yumurta inkübasyonu için ideal olan 11,77-12,91°C değerleri arasında kaydedilmiştir.



Şekil 5. Akışlı ve su akışı kesilen sistemlerde farklı kimyasal uygulamaları sonucu gruplarda oluşan pH değerleri.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Alabalık yetiştiricilik sistemlerinde birçok değişken kuluçka performansına etki etmektedir. Anaç balıklar, kuluçka sistemleri ve kalifiye personel bu etkenlerden bazılarıdır. Ancak, su kalitesi, kuluçka performansını etkileyen beklide en önemli faktördür. Gökkuşuğu alabalığı kuluçka sistemlerinde su sıcaklığı bakımından optimum değer 12°C olarak ifade edilmektedir. (Emre & Kürüm, 2007). Alabalık kuluçka sistemlerinde özellikle su sıcaklığı kuluçka başarısı için kritik öneme sahiptir. Bununla birlikte pH değeri önemli bir su kalite kriteridir ve bu değer 6,7-8,6 olarak ifade edilmiştir (Leitritz & Levis, 1980). Gerçekleştirilen bu çalışmada, suyun sıcaklık ve pH değerleri sırasıyla 11,77-12,91 ve 7,5 olarak kaydedilmiştir. Bu değerler yumurta inkübasyonu için uygun değerler arasında yer almaktadır.

Sodyum hidroksit, kostik maddeler içerisinde yer alan ve geniş kullanımı olan bir kimyasaldır (Adakan & Çekin, 2014). Kostik sınıfında yer alan diğer tüm maddelerin kimyasal yaralanmalara ve özafagus gibi dokuların tahribatına neden olduğu bildirilmektedir. Buna karşın, sodyum hidroksit gıda üretiminde özellikle zeytin imalatında yasal olarak kullanılan bir maddedir. Ancak tebliğ gereği yasal sınırlara ve uzaklaştırma prosedürüne uyulması gerekliliği önem arz etmektedir. Bu durumun aksine, balıklarda yumurta inkübasyonu ve muhtelif parazitlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan formalinin gıda koruyucusu olarak kullanımında ciddi kanser tehdidi bulunduğu rapor edilmiştir (Mamun vd., 2014). Bu anlamda değerlendirildiğinde formaline göre daha sağlıklı ve çevre dostu denilebilecek olan sodyum hidroksitin alabalık yumurta inkübasyonunda dezenfektan olarak kullanım olanağı bu çalışma ile ortaya konulmuştur. Bu çalışma ile iki farklı sistemde NaOH gerek gözlenmiş yumurtalarda ve gerekse gözlenmemiş yumurtalarda inkübasyon sırasında kuluçka performansına katkı sağlayan bir kimyasal olarak

belirlenmiştir. Özellikle akar sistemde, yumurta inkübasyonunda mantarlaşmanın önlenmesinde ve dolayısıyla hayatta kalmaya yardımcı olan formalin gibi yaygın kullanımı olan bir kimyasaldan daha etkin bir sonuç vermesi oldukça önemli bir bulgudur. Bu bulgu, sodyum hidroksitin henüz gözlenmemiş ve hiçbir mekanik müdahalenin yapılmadığı dönemde alabalık yumurtalarında mantarlaşmanın önlenmesi ve hayatta kalma oranını arttıracak bir kimyasal olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Şekerciboyası bitkisinin (*P. americana*) özellikle meyve kısmı birçok araştırmaya konu olmuştur. Bu bitkinin meyvelerinden elde edilen materyalin balık yumurtalarında kullanımı ile ilgili fikir, Bajpai vd., (2012)'nin bitki ekstraktlarının diğer bitkilerde hastalık oluşturan mantar hastalıklarına karşı kullanılabilir olduğunu rapor etmesi sonucu ortaya çıkmıştır. Bu çalışmada, *P. americana* bitki meyvesinin balık yumurtalarında dezenfektan olarak kullanılıp kullanılmayacağı sorusuna cevap aranmıştır. Elde edilen sonuçlar bu bitki meyvesinin farklı konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre yumurtalarda oldukça yüksek bir ölüm oranına neden olduğunu göstermiştir. Sonuç olarak, *P. americana*'nın meyvesinin bahsi geçen doz ve sürelerde alabalık yumurtalarında kullanımı tavsiye edilmemektedir. Ancak çalışmada belirtildiği gibi bu bitki ile ilgili çalışma döllenmiş yumurtalarda ve nispeten yüksek dozlarda uygulanmıştır. Daha düşük konsantrasyonları ve döllenmemiş yumurtalarda sağaltım başarısının sağlanıp sağlanamayacağı ile ilgili çalışmaların yapılması önem arz etmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu Çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tez Çalışması Olarak Sunulan "Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yumurtalarında Alternatif Dezenfeksiyon Uygulamaları" İsimli Tezden Üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Adakan, Y. & Çekin, A.H. (2014). Kostik maddelerin neden olduğu üst sindirim kanalı yaralanmaları. *Güncel Gastroenteroloji*, 18/3.
- Bajpai, V.K., Baek, K.H., Kim, E.S., Han, J.E., Kwak, M., Oh, K., Kim, J.C., Kim, S. & Choi, G.J. (2012). In vivo antifungal activities of the methanol extracts of invasive plant species against plant pathogenic fungi. *Plant Pathology Journal*, 28(3), 317-321.
- Balta, F., Kayis, S. & Altinok, I. (2008). External protozoan parasites in three trout species in the eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 28(4), 157-162.

- Balta F ve Dengiz Balta F., (2018).** Gökkuşığı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Yavrularında Görülen Hexamitozis'in Tanı ve Tedavisi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 4-8.
- Emre, Y. & Kürüm, V. (2007).** Havuz ve kafeslerde alabalık yetiştiriciliği teknikleri, Ankara, Türkiye, 231s.
- Kayış, Ş. (2019).** Analysis of Fish Health Status in Terms of Sustainability of Aquaculture in Turkey-A SWOT Analysis, *Aquaculture Studies*, 19(1), 69-76.
- Khosravi, A.R., Mirzargar, S. & Sharifpour, I. (2010).** Fungal contamination in rainbow trout eggs in Kermanshah province propagations with emphasis on Saprolegniaceae. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 9(1), 151-160.
- Lasee, B.A. (1995).** *Introduction to fish health management*, U.S. Fish and Wildlife Service, La Crosse Fish Health Center 555, Lester Avenue Onalaska, Wisconsin, 35p.
- Leitritz, E. & Levis, R.C. (1980).** Trout and salmon culture: Hatchery Methods, *California Fish Bulletin*, 164.
- Mamun, M.A.A., Rahman, M.A., Zaman, M.K., Ferdousi, Z. & Abu Reza, M. (2014).** Toxicological effect of formalin as food preservative on kidney and liver tissues in mice model. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 8, 47-51.
- Kanlı, E. (2019).** *Gökkuşığı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) yumurtalarında alternatif dezenfeksiyon uygulamaları*. Yüksek Lisans Tezi. RTEÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, Rize, Türkiye, 27s.
- Ural, M.Ş., Çalta M., Celayir Y. & Aydın, R. (2011).** Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1972) yumurtalarının dezenfeksiyonunda kullanılan bazı kimyasal maddelerin kuluçka parametrelerine etkileri. *Biyoloji Bilimleri Araştırma Dergisi* 4(1), 37-41.
- Woyanovich, A., Hoitsy, G. & Moth-Poulsen, T. (2011).** *Small-scale rainbow trout farming*, FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper, No. 561. Rome, 81p.

***Corresponding author's:**

Şevki KAYIŞ¹

Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, 53100 Rize, Türkiye.

✉E-mail: sevki.kayis@erdogan.edu.tr

ORCID : <https://orcid.org/0000-0002-9391-7613>

GSM : +90 (505) 452 56 63

Telefon : +90 (464) 223 33 85

Faks : +90 (464) 223 41 18