

J Aquacult Eng Fish Res

Vol. 4 Issue 1 2018

E-ISSN 2149-0236

**Journal of
Aquaculture Engineering
&
Fisheries Research**



**ScientificWebJournals
(SWJ)**

Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E- ISSN 2149-0236

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

© 2015-2018 ScientificWebJournals (SWJ)

All rights reserved/Bütün hakları saklıdır.

is published in one volume of four issues per year by

www.ScientificWebJournals.com

Contact e-mail: jaefr@scientificwebjournals.com and ozkanozden@scientificwebjournals.com

Aims and Scope

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

"Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research" do not charge (it's free) any article submission or processing charges.

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

Aquaculture Science/Aquaculture Diseases/Feeds/Genetics/

Ecological Interactions/Sustainable Systems/Fisheries Development

Fisheries Science/Fishery Hydrography

Aquatic Ecosystem/Fisheries Management

Fishery Biology/Wild Fisheries/Ocean Fisheries

Biology/Taxonomy

Stock Identification/Functional Morphology

Freshwater, Brackish and Marine Environment

Chief editor:**Prof. Dr. Özkan ÖZDEN**

Istanbul University, Faculty of Aquatic Sciences, Turkey

Editorial board:

Prof. Dr. Mamcarz ANDRZEJ

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

Prof. Dr. Bela H. BUCK

Alfred Wegener Institute for Polar and Marine Research, Germany

Prof. Dr. Nihar Ranjan CHATTOPADHYAY

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

Prof. Dr. Frerk FELDHUSEN

Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Rostock, Germany

Prof. Dr. Mohd Salleh Bin KAMARUDIN

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

Prof. Dr. Masashi MAITA

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

Prof. Dr. Saleem MUSTAFA

University of Malaysia Sabah, Borneo Marine Research Institute, Malaysia

Prof. Dr. Predrag SIMONOVIĆ

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

Prof. Dr. Yordan STAYKOV

University of Trakia, Agricultural Faculty, Bulgaria

Assoc. Prof. Dr. Yıldız BOLAT

University of Süleyman Demirel, Eğirdir Fisheries Faculty, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Ioannis S. BOZIARIS

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

Assoc. Prof. Dr. Şeref KORKMAZ

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

Assoc. Prof. Dr. Lyudmila NIKOLOVA

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

Assoc. Prof. Dr. Ertan Emek ONUK

University of Ondokuz Mayıs, Faculty of Veterinary Medicine, Turkey

Assoc. Prof. Dr. Cui ZHENGGUO

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

Dr. Yannis P. KOTZAMANIS

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

Dr. Ricardas PASKAUSKAS

Institute of Botany, Nature Research Centre, Lithuania



Vol. 4 Issue 1 Page 1-63 (2018)

Table of Contents/İçerik

EFFECT OF WORMWOOD (*Artemisia vulgaris* L) ON RESISTANCE AGAINST DISEASES AND NONSPECIFIC IMMUNE SYSTEM IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) / Pages: 1-11

Öznur Diler, Öznur Görmez, Sedef Terzioğlu, Aşkın Atabay

MOTILITY EVALUATION AND CRYOPRESERVATION OF FISH SPERM EXPOSED BY WATER-BORNE AND FOOD-BORNE BORON / Pages: 12-19

Burak Evren İnanan, Fevzi Yılmaz

THE CATCH COMPOSITION OF BOTTOM TRAWL FISHING IN THE WESTERN BLACK SEA (ŞİLE-İĞNEADA) / Pages: 20-34

Taner Yıldız, F. Saadet Karakulak

DETERMINATION OF ACUTE AND CHRONIC TOXIC EFFECTS OF METHYL PARATHION ON *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811) / Pages: 35-45

Ertuğrul Kankaya, Güler Ünal

AN OBSERVATION ON INTRACAPSULAR AND POST-EMBRYONIC PHASES OF RIVER NERITE (*Theodoxus fluviatilis*) / Pages: 46-54

Mehmet Güler, Deniz Çoban, Birsen Kırım

A STUDY ON AWARENESS OF PEOPLE ABOUT JELLYFISH ALONG THE SOUTHWEST COASTS OF TURKEY / Pages: 55-63

Nurçin Killi, Ozan Sağdıç, Sibel Cengiz

PELİN OTU (*Artemisia vulgaris* L)' NUN GÖKKUŞAĞI ALABALIKLARINDA (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) HASTALIKLARA KARŞI DİRENÇ VE SPESİFİK OLMAYAN BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ÜZERİNE ETKİSİ

Öznur Diler , Öznur Görmez , Sedef Terzioğlu , Aşkın Atabay 

Cite this article as:

Diler, Ö., Görmez, Ö., Terzioğlu, S., Atabay A. (2018). Pelin Otu (*Artemisia vulgaris* L)' nun Gökkuşacağı Alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) Hastalıklara Karşı Direnç ve Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi. *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 4(1), 1-11. DOI: 10.3153/JAEFR18001

Süleyman Demirel Üniversitesi
Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi, Su
Ürünleri Yetiştiriciliği Bölümü,
Isparta, Türkiye

Submitted: 25.04.2017

Accepted: 23.11.2017

Published online: 21.12.2017

Correspondence:

Öznur GÖRMEZ

E-mail:

oznurgormez@sdu.edu.tr

Journal of Aquaculture Engineering
and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

4(1), 1-11 (2018)

DOI: 10.3153/JAEFR18001

ScientificWebJournals (SWJ)
©2015-2018

ÖZ

Bu çalışmada pelin otu (*Artemisia vulgaris* L)' nun gökkuşacağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) bağışıklık ve *Vibrio anguillarum*' a karşı direnç sağlayan uygun dozlarının tespiti amaçlanmıştır. Pelin otu, ortalama ağırlığı $20.48 \pm 0.19 - 20.81 \pm 0.04$ g olan balıkların yemlerine toz (%0, %0.1, %0.5, %1, %2) ve etanol ekstraktı (250 ve 1000 mg/kg) olarak ilave edilmiştir. Bazı hematolojik (hematokrit, eritrosit ve lökosit değerleri) ve immunolojik (lizozim, fagositik ve NBT aktivite) özellikler incelenmiştir. NBT, lizozim ve fagositik aktivitenin kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Gökkuşacağı alabalıkları, 45. günde *V. anguillarum* ile deneysel yolla enfekte edilmiştir. Araştırma sonuçlarımızda pelin otunun yemlere ilavesi ile balıkların, immun sistemi ve *V. anguillarum*' a karşı direncinin arttığı belirlenmiştir. Pelin otunun balıklarda immunostimulant olarak kullanılabilceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Artemisia vulgaris*, *Vibrio anguillarum*, Bağışıklık, *Oncorhynchus mykiss*, Lizozim, Fagositik aktivite

ABSTRACT

EFFECT OF WORMWOOD (*Artemisia vulgaris* L) ON RESISTANCE AGAINST DISEASES AND NONSPECIFIC IMMUNE SYSTEM IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)

The present study was aimed at determining the effects of wormwood (*Artemisia vulgaris* L) on the immune response and disease resistance against *Vibrio anguillarum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). Wormwood was incorporated into the diets as powder (0%, 0.1%, 0.5%, 1%, 2%) and ethanol extracts 250 and 1000 mg kg⁻¹ of rainbow trout *O. mykiss* ($20.48 \pm 0.19 - 20.81 \pm 0.04$ g). Some haematological (WBC, RBC, level) and immunological (NBT assay, lysozyme and phagocytic activity) parameters were determined in fish blood. In NBT assay, lysozyme and phagocytic activity were enhanced in wormwood treated groups compared with the control group ($p < 0.05$). After 45 days, fish were challenged with *V. anguillarum* and mortality (%) was recorded up to day 10 post-challenge. The best survival (100%) was in the 1% and 2% wormwood diet groups. These results indicate that wormwood supplementation significantly increased the immunity and makes *O. mykiss* more resistant to infection by *V. anguillarum*. It could be concluded that wormwood could be used as immunostimulant for rainbow trout.

Keywords: *Artemisia vulgaris*, *Vibrio anguillarum*, Immunity, *Oncorhynchus mykiss*, Lysozyme, Phagocytic activity

Giriş

Antimikrobiyal maddelerin hayvansal üretimde enfeksiyonların tedavisi yanı sıra büyüme destekleyici ve yem verimini arttırmak amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir (Gorbach, 2001). Avrupa Birliği tarafından 2006 yılından itibaren hayvansal yemlerde antibiyotiklerin kullanımı yasaklanmıştır. Ülkemizde ise gerek bakteriyel dirence yol açabileceği gerekse hayvansal yan ürünlerde kalıntı bırakarak insan sağlığını tehdit edebileceği endişesiyle antibiyotiklerin yem katkı maddesi olarak kullanımı eş zamanlı olarak yasaklanmıştır. Bu yasaklanma ile birlikte gerek gastro-intestinal mikrofloranın sağlığını koruyarak bakteriyel hastalıkların kontrol altına alınması gerekse hayvanların bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve büyüme performansının desteklenmesi, mortalitenin azaltılması amacıyla antibiyotiklere alternatif olabilecek bazı tıbbi bitki türlerinin yem katkı maddesi olarak kullanılmasının iyi bir alternatif olduğu bildirilmektedir (Hermann vd., 2003; Goda, 2008; Keser ve Bilal, 2008).

Balıklarda infeksiyöz hastalıklara karşı direncin artırılması için, immunostimulantlar kullanılmaktadır. Bunlar aşularla birlikte verildiklerinde spesifik savunma mekanizmasını arttıran, tek başlarına verildikleri zaman da spesifik olmayan savunma mekanizmasını aktive edebilen bileşiklerdir. Yaygın olarak kullanılanlar; büyüme destekleyiciler; bitkisel katkı maddeleri; probiyotikler, beta-glukanlar, vitaminlerdir (Goda, 2008). Son zamanlarda su ürünleri yetiştiriciliğinde de immunostimulant olarak tıbbi bitkilerin kullanılması için artan bir ilgi vardır (Goda, 2008; Galina vd., 2009; Uluköy vd., 2009; Bilen ve Bulut, 2010; Citarasu, 2010; Abdel-Tawwab vd., 2010).

Doğada yetişen bitki gruplarında en fazla uçucu yağ içeren familyalardan biri de Asteraceae (Compositae)' dir. Asteraceae familyasındaki bitki türlerinin antimikrobiyal ve antioksidan özellikler gösterdiği bildirilmektedir (Brisibe vd., 2009, Dülger vd., 1999). Bu familyada yer alan pelin otu bitkisi yaprakları antitumor, antiinflamatuvar, antioksidatif, antibakteriyel, antiviral ve antiparaziter özelliklere sahip bileşenleri içermektedir (Abad vd., 2012). Ülkemiz, tıbbi bitki sayısı yönünden oldukça zengin potansiyele sahip olmasına rağmen, günümüzde ekosisteme zarar vermeyen, doğal, güvenilir, antimikrobiyal etkili bu ajanların su ürünleri sektörüne kazandırılması ve uygun dozların bilinmesi gerekmektedir.

Bu araştırma ile, ülkemiz bitki florasında yer alan ve doğadan toplanan önemli bir tıbbi ve aromatik bitki türü olan pelin otunun (Asteraceae) ilk kez gökkuşuğu alabalıklarında immunostimulant etkisi (spesifik olmayan bağışıklık siste-

minin güçlendirilmesi) ve hastalıklara karşı direncin artırılması amaçlanmıştır. Aynı zamanda ülkemiz tıbbi bitkilerinin katma değerinin artırılması hedeflenmiştir.

Materyal ve Metot

Materyal

Araştırmada Kullanılan Balıkların Temini ve Araştırmanın Uygulama Yeri

Araştırmada kullanılmak üzere ortalama ağırlıkları $20,48 \pm 0,19$ -- $20,81 \pm 0,04$ g ve boyları 10-12 cm olan toplam 1470 adet ($(70 \times 3) \times 7 = 1470$ adet) gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), Aksu bölgesindeki Dinçler alabalık üretim biriminden temin edilerek SDÜ Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Yetiştiricilik Ünitesine taşınmıştır.

Araştırmada balıklar içerisinde 4000 lt su bulunan 3 bölmeli 7 adet uzun beton havuza yerleştirilmiştir (Şekil 1). Deneme balıkları adaptasyon süresince ticari alabalık pelet yemiyle günde iki kez doyuncaya kadar beslenmiştir. Deneme süresince tanklardaki yem artıkları su kalitesinin bozulmaması için sifon yardımıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır. Araştırmaya başlamadan önce rastgele seçilen 15 adet balık mikrobiyolojik yönden (bakteri, mantar, parazit) incelenmiş ve herhangi bir enfeksiyon taşımadığı görülmüştür.

Araştırmada kullanılan artezyen suyunun debisi 12 L/dk, tanklardaki suyun ortalama sıcaklığı $12 \pm 2^\circ\text{C}$, pH' sı 7.3 ve suda çözülmüş oksijen miktarı 7.4 mg/L olarak ölçülmüştür.

Pelin Otunun Temini ve Teşhisi

Araştırmada kullanılan pelin otu bitkisi, Van bölgesi civarından toplanarak temin edilmiş ve uluslararası koda sahip bir herbaryum olan Gül Herbaryumu' nda (Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Isparta) sistematik uzmanları Prof. Dr. Hasan ÖZÇELİK ve Dr. Belkıs MUCA tarafından klasik taksonomi metotlarına göre teşhis edilmiştir. İlgili türün teşhisinde Flora of Turkey and the East Aegean Islands Vol V. (Davis, 1975) eseri kullanılmıştır. Ayrıca tür teşhisi yapılırken bazı sistematik sözlüklerden ve yardımcı kaynaklardan da yararlanılmıştır (Baytop, 1984; Baytop, 1998; Seçmen vd., 2004). Pelin otu bitkisinin toz halinin ve ethanol ekstraktının ana bileşenleri yönünden kimyasal özellikleri Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Araştırma Laboratuvarındaki Gaz kromatografi cihazıyla (GC/MS kullanılarak) belirlenmiştir. Gaz kromatografisi çalışma koşulları Tablo 1' de verilmiştir.

Metot

Araştırmada Kullanılan Bitki Türünün Toz ve Etanol Ekstrakt Şeklinde Yeme İlave Edilmesi

Araştırmada kullanılan pelin otu bitkisi kurutulduktan sonra mikser yardımıyla toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen bitki türü %0.1, %0.5, %1, %2 ve %0 oranlarında ticari alabalık yemine ilave edilmiştir. Pelin otu bitkisinin etanol ekstraktı ise 15 g kuru bitki örneği 50 mL etanolde 2 saat süre ile tutulduktan sonra süzme işlemi için whatman no1 filtre kağıdından geçirilmiş, su banyosu yardımıyla buharlaştırma işlemi yapılmıştır. Ekstrakt 250, 1000 ve 0 (kontrol) mg/kg oranlarında ticari alabalık yemine ayçiçeği yağı ile birlikte spreyleme yöntemi ile ilave edilmiş ve gökkuşuğu alabalıkları vücut ağırlıklarının %3 oranında 60 gün süreyle beslenmişlerdir. Kontrol grubundaki balıklar ise bitki ve ekstrakt ilavesi yapılmayan ticari alabalık yemiyle vücut ağırlığının %3' ü oranında beslenmiştir.

Araştırmada Kullanılan Bitki Türünün Gökkuşuğu Alabalıklarının Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisinin Belirlenmesi

Araştırmada kullanılan bitki türlerinin spesifik olmayan bağışıklık sistemine etkisinin belirlenmesi için gökkuşuğu ala-

balıklarından 20. ve 45. günde kan alınarak; lökosit ve eritrosit sayısı, hematokrit yüzdesi, NBT, fagositoz, serum lizozim aktivitesi incelenmiştir.

Balıklardan Kan Alımı

Araştırmanın 20 ve 45. günlerinde gökkuşuğu alabalıkları (her gruptan 6 balık) Quinaldine (50 ppm) ile anestezi edildikten sonra kuyrukları kesilerek kaudal venalarından şırınga ile heparinli tüplere kan alınmıştır (Dorucu vd., 2009).

NBT-Pozitif Hücrelerin Sayımı

NBT-pozitif hücrelerin sayımında Anderson vd. (1992) tarafından tanımlanan metot kullanılmıştır. Nitroblue tetrazolium (NBT) solüsyonu steril PBS ile %0.2 oranında taze olarak hazırlanmıştır. Lamel üzerine 50 µL kan damlatıldıktan sonra kâğıt mendillerin ıslatılıp içine konulduğu nemli petri kutularında 22°C' de 30 dakika inkübe edilmiştir. Daha sonra kırmızı kan hücrelerini uzaklaştırmak için pH 7' ye ayarlanan fizyolojik tuzlu su ile lamel nazik bir şekilde yıkanmıştır. Ardından bir damla NBT solüsyonu damlatılmış lam üzerine kırmızı kan hücrelerinden arındırılmış lamel kapatılarak ve nemli petri kutularında 22°C' de 30 dakika inkübe edilmiştir. Pozitif koyu mavi boyanmış hücreler mikroskopta x40 büyütmede her balıktan 5 lamelde ve 5 farklı alanda sayılmış ve ortalamaları alınmıştır.



Şekil 1. Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi beton havuzları

Figure 1. Concrete ponds of Eğirdir Fisheries Faculty at Süleyman Demirel University

Tablo 1. Gaz kromatografisi çalışma koşulları

Table 1. Gas chromatography working condition	
İnjesiyon kolonu	250° C
Dedektör	250° C
Akış hızı (mL/min)	1.5
Dedektör	70 eV
Taşıyıcı gaz	Helyum
Kapılar kolon	Cp WAX 52 CB 50 m * 0.32 mm, 1.2 µm
Sıcaklık Programı	Kolon sıcaklığı başlangıçta 40°C olup, 230°C' ye dakikada 4°C' lik artışla ulaşmıştır. 230°C' de 10 dk süreyle sabit tutulmuştur.
Bilgi bankası	Wiley, nist, tutor

Eritrosit ve Lökosit Sayımı

Kuyrukları kesilerek kaudal venadan alınan kan örneği Natt-Herrick eriyiği ile eritrosit sulandırma pipeti aracılığıyla 100 kat sulandırılarak Thoma lamında eritrosit ve total lökosit sayımı yapılmıştır (Kocabatmaz vd., 1982; Hoffman ve Lommel, 1984).

Natt-Herrick solüsyonu için, 3.88 g Sodyum klorür, 2.5 g Sodyum sülfat, 2.91 g Disodyum fosfat 12H₂O₂, 25 g Monopotasyum fosfat, 7.5 cc (%37) Formalin, 0.1 g Metil kırmızısı ve 1000 cc Distile su karıştırılarak hazırlanmıştır.

Serum Lizozim Aktivitesinin Belirlenmesi

Alınan kan örnekleri +4°C' de 24 saat bekletildikten sonra 5000 devirde soğutmalı santrifüjünde 10 dk santrifüj edilmiştir ve serum kısmı -20°C' de 30 gün içinde lizozim aktivitesi belirlenene kadar saklanmıştır. Lizozim aktivitesini belirlemek amacı ile diffüzyon agar (Agar plate, lysoplate) metod kullanılmıştır (Ellis, 1990). Kısaca, PBS (Fosfat buffer saline) içine %0.5 Agar ve %0,12 g liyofilize *Micrococcus lysodeicticus* katılarak hazırlanmıştır. Petrilerde agar katılaştıktan sonra 5 mm çapında çukurlar açılmıştır. Daha önceden alınan serum 25 µl olacak şekilde çukurlara ilave edilmiştir. Petriler 36°C' de 20 saat inkübe edildikten sonra çukurların etrafında oluşan zonların çapları ölçülmüştür.

Hematokrit Değerinin Saptanması

Hematokrit değeri (%) mikrohematokrit yöntemiyle belirlenmiştir. Mikrohematokrit tüplerinin ¾' ü kan ile doldurulduktan sonra, tüpün kan olmayan ucu alevde yakılarak kapatılarak hematokrit santrifüjünde 10500 devir/dakika 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında % hematokrit değer santrifüjün skalasından okunmuştur. Her balık örneği için iki adet mikrohematokrit tüpü hazırlanmıştır (Tanyer, 1985).

Fagositik Aktivitenin Belirlenmesi

Lökosit hücrelerinin fagositik aktiviteleri için PBS' de %0.87 oranında hazırlanan Kongo red solüsyonunun 3 mL' si maya hücreleri süspansiyonuna (1.5 g) ilave edilmiş ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 7 mL distile su eklenerek otoklavlanmıştır. Bu metotta Kongo redle boyanan maya hücreleri fagosite ettirilerek ölçülmüştür. Lökosit solüsyonuna (250 µL) son konsantrasyonda 1:40 oranında maya hücresi: lökosit olacak şekilde 500 µL Kongo red boyası ile boyanan ve otoklavlanan maya hücreleri süspansiyonu eklenmiştir. Bu karışım oda sıcaklığında 60 dakika inkübe edilmiş ve inkübasyondan sonra 1 mL buzla soğutulmuş HBSS (Hank's Balanced Salt Solution) eklenmiş ve 1 mL Histopaque (1.077) her örnek tüpünün dip kısmına enjekte edilmiştir. Örnekler 850xg de 5 dakika santrifüjlenerek makrofajlar maya hücrelerinden ayrılmıştır. Makrofajlar alınmış ve HBSS' de 2 kez yıkanmıştır. Daha sonra hücreler 1 mL trypsin-EDTA solüsyonu (5.0 g/L trypsin ve 2.0 g/L EDTA, Sigma) ile tekrar süspansiyon edilerek 37°C' de bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Örneklerin absorbansı tripsin-EDTA kullanılarak 510 nm' de ölçülmüştür (Seeley vd., 1990).

DeneySEL Enfeksiyon Uygulamaları

Araştırmanın 45. gününde pelin otu bitkisi toz (%0.1, %0.5, %1.0, %2.0 ve %0 oranında) ve etanol ekstraktı (250, 1000 ve 0 mg/kg oranında) ilaveli yemlerle beslenen gökkuşuğu alabalıklarında *Vibriosis* hastalığına karşı direnç sağlayıp sağlamadığını belirlemek için balıklar *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilmiştir. DeneySEL enfeksiyonda kullanılan *V. anguillarum* suşu Fethiye bölgesindeki bir alabalık işletmesinden izole edilmiş olup, bu suş Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Balık Hastalıkları Anabilim Dalı stok kültürden alınarak T-TSA' ya ekimleri yapılmıştır. Bu besiyerinde 22°C' de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra TSB' a alınarak

subkültürü yapılmıştır. TSB besiyerinde 22°C' de 24 saat inkübe edildikten sonra mililitredeki canlı bakteri sayısı (cob/mL) ve optik dansite değerleri (O.D.) spektrofotometre ile tespit edilmiştir (Ekici, 2010; Çağırğan, 2004; Altun, 2001; Santos vd., 1991).

Deneysel enfeksiyon yapılan balıklarda bağışıklığın tespitine geçmeden önce, test yapılacak balık popülasyonunda %50' ini öldüren bakteri sayısı (LD₅₀) belirlenmiştir. LD₅₀ değerini saptamak için her biri 25' er adet balıktan oluşan gruplara 2x10⁷, 2x10⁵, 2x10⁴, 2x10² ve 2x10¹ kob/mL yoğunlukta bakteri i.p. yolla injekte edilip, balıklar 25 gün boyunca takip edilmiştir. Deneysel enfeksiyon uygulamaları neticesinde elde edilen sonuçlar semilogaritmik grafik kağıdı üzerinde değerlendirilerek LD₅₀ değeri belirlenmiştir (Ekici, 2010; Ellis,1999).

Denemenin 45. gününde her gruptan 10 adet toplamda 30 adet gökkuşağı alabalığına 2x10² kob/mL LD₅₀ oranındaki *V. anguillarum* patojeni i.p. enjeksiyon (0,1 mL) ile verilmiştir. Deneysel enfeksiyon uygulamasından sonra balıklar 21 gün boyunca izlenerek, ölümler günlük olarak kayıt edilmiş ve ölü veya ölmekte olan balıkların iç organlarından reizolasyon için T-TSA'ya ekimler yapılmıştır. Ekimler sonucu ölümlerin *V. anguillarum*' un neden olduğu enfeksiyondan kaynaklanıp kaynaklanmadığı tespit edilmiştir (Ekici, 2010; Çağırğan, 2004; Altun, 2001; Santos vd., 1991).

Bağışıklığın Değerlendirilmesi

Doğal immunostimulant maddelerin oluşturduğu koruma, balıkların hayatta kalma yüzdesi (RPS= Relative Percent Survival)' ne göre değerlendirilmiştir (Altun, 2001; Santos vd., 1991).

✓ **RPS** = [1-(Bitkisel ürünlerin kullanıldığı balık gruplarındaki mortalite (%)/Kontrol grubundaki mortalite (%))] X 100

İstatistiksel Analizler

Denemede elde edilen veriler (immunolojik parametreler, mortalite ve RPS değerleri) SPSS 10.0 paket programında Anova testi ile değerlendirilmiştir (SPSS Inc, Chicago, IL, USA). Denemede incelenen çeşitli parametrelerin önem derecelerini karşılaştırırken sonuçlar ortalama değer ve standart sapma olarak verilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Pelin Otunun GC-MS Analiz Sonuçları

Bu çalışmada pelin otu bitkisinin kimyasal kompozisyonunda 46 farklı bileşen elde edilmiş olup isoamyl format

(%18), β-tuyon (%14.02), vinyl amil karbinol (%7.15), β-karyofilen (%5.06)' in ana bileşenler olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada Kullanılan Bitki Türünün Gökkuşağı Alabalıklarının Spesifik Olmayan Bağışıklık Sistemi Üzerine Etkisi

Araştırmanın 20. gününde lökosit sayımında %2 gruplarının kontrol grubu ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu 45. günde ise gruplar arasında fark olmadığı belirlenmiştir. Eritrosit sayısının 20. günde %0.5, %0.1 ve 1000 mg/kg gruplarında, 45. günde ise %2, 250 mg/kg ve 1000 mg/kg gruplarında kontrol grubu ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Hematokrit (%) değerinin 20. günde 1000 mg/kg gruplarında, 45. günde ise %2 %0.1 ve 250 mg/kg grubunda kontrol grubu ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 2).

20. günde kontrol grubu ve diğer gruplara göre %0.1 ve %1 gruplarının en yüksek NBT aktiviteyi verdiği ve 45. günde bu aktivitenin tüm gruplarda kontrolden daha yüksek olduğu dikkati çekmiştir. Lizozim aktivitesinin ise 20. ve 45. günlerde kontrole göre tüm gruplarda artmış olduğu, en etkili grupların %0.1 ve 1000 mg/kg olduğu görülmüştür. Fagositik aktivitenin tüm gruplarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ve en yüksek aktivitenin %0,5 ve %0.1 dozlarında olduğu bulunmuştur (Tablo 2).

Gökkuşağı Alabalıklarında Pelin Otu Bitkisinin *V. anguillarum* Patojenine Karşı Direnç Etkisi ve Nisbi Yaşama Oranları (RPS)

Deneysel enfeksiyon uygulama sonrası gökkuşağı alabalıklarında *Vibrio anguillarum*' a karşı yaşama oranı bakımından sırasıyla %2, %1 ve 1000 mg/kg ekstrakt grubunun daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir (p<0,05) (Tablo 3).

Hızla gelişmekte olan su ürünleri yetiştiriciliğinde intensif üretim şartlarında infeksiyöz hastalıklar nedeniyle ekonomik kayıplar görülmektedir. Bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotikler su ürünlerinde ve son tüketicilerde olumsuz etkilere ve patojenik bakterilerin direnç kazanmasına neden olmaktadır. Ayrıca, oral kemoterapi sindirim sistemindeki yararlı olan mikrobiyal florayı inhibe etmektedir (Teuber, 2001; Hermann vd. 2003). Bu nedenle, hastalıklara karşı direnç kazandıran alternatif ürünlerin kullanılması gündemdedir (Xiang ve Zhou 2000; Irianto ve Austin 2002; Lin ve Zhang., 2004; Abdel-Tawwab vd., 2008; Ard' o vd., 2008; Goda, 2008; Kesarcodi-Watson vd., 2008).

Su ürünleri yetiştiriciliğinde farklı tıbbi bitki türlerinin immunostimulant etkilerinin incelendiği araştırmalar yapılmaktadır (Terzioglu ve Diler 2016, Goda, 2008; Galina vd.,

2009; Uluköy vd., 2009; Bilen ve Bulut, 2010; Citarasu, 2010; Abdel-Tawwab vd., 2010; Pratheepa ve Sukumaran, 2014). Bu çalışmalarda, Pratheepa ve Sukumaran (2014), farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *Euphorbia hirta* ekstraktı ile beslenen ve deneysel yolla *Aeromonas hydrophila* ile enfekte edilmiş *Cyprinus carpio* balıklarında eritrosit, hemogloblin, lökosit sayımı gibi hematolojik reaksiyonların bakteriyel enfeksiyonun olumsuz etkilerini azalttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada bitkiyle beslenen gruplarda NBT+ hücre sayısı ve lizozim aktivitesinin de kontrol grubuna göre önemli seviyede arttığı tespit edilmiştir.

Benzer olarak Bilen vd. (2013) ise tetra (*Cotinus coggygia*) bitkisinin metanol ekstraktı ile koi balıklarını (*Cyprinus carpio carpio*) 3 farklı dozda 4 hafta beslemişlerdir. Balıklarda lökosit, NBT + hücre sayısı ve lizozim aktivitesinin önemli ölçüde arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca Ndong ve Fall (2011), hibrid tilapia (*Oreochromis niloticus x O. aureus*) balıklarının diyetine 0, 0.5 ve 1 g/kg sarımsak (*Allium sativum*) ilavesinin bağışıklık sistemi üzerine etkisini değerlendirmiştir. 4 hafta sonunda 0,5 g/kg sarımsak ilave edilen diyetle beslenen balık grubunun kontrol grubuna göre toplam lökosit sayısı, fagositik aktivite ve lizozim aktivitesinde önemli artış olduğunu belirlemişlerdir.

Lizozim bakteri hücrelerine karşı etkili bir antimikrobiyal peptid olup bağışıklık sistemi için önemli bir parametredir. Lizozim aktivitesi stres, su sıcaklığı, besin maddeleri, enfeksiyon gibi faktörlerden etkilenebilmektedir. Bitkisel ekstraktların balık yemlerinde yem katkı maddesi olarak kullanımı sonucu lizozim salgısı yapan fagositik makrofaj hücrelerinde artış sağlamaktadır. Ayrıca lizozim aktivitesinin artışı kandaki monosit ve nötrofil varlığı ile ilişkili olması sonucunda lizozim artışı ile NBT+ hücre sayısının da arttığı tespit edilmiştir (Pratheepa ve Sukumaran, 2014). Spesifik olmayan bağışıklık çalışmaları için lökosit sayımı önemli bir parametre olup lökosit sayısındaki artış immunostimulasyon için bir kanıt olarak kabul edilmektedir (Treves-Brown, 2000).

Awad ve Austin (2010) %1 oranında *Lupinus perennis*, *Mangifera indica*, *Urtica dioica* bitkileri ile 21 gün beslenen gökkuşacağı alabalıklarında *Aeromonas hydrophila*' ya karşı yapılan deneysel enfeksiyonda mortalitenin kontrole göre 3 farklı bitki grubunda önemli ölçüde azalması, söz konusu etkinin balıklarda lizozim, bakterisidal etki ve respiratory burst aktivitelerinin artması ile bağlantılı bulunmuştur. Ayrıca hematolojik parametreler bakımından *U. dioica* hariç diğer bitkilerin eritrosit ve lökosit değerleri, *U. dioica*' da ise hematokrit (%) sayısında artış tespit edilmiştir.

Dorucu vd. (2009), gökkuşacağı alabalıkları *Nigella sativa* (çörek otu) bitkisi ile %1, %2.5 ve %5 oranlarında 21 gün süre ile beslemişlerdir. Hematolojik parametreler ve spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkiyi araştırdıkları bu çalışmanın sonunda %1, %2.5 gruplarında hematokrit değerlerinin kontrole göre değişmediği ancak %5 çörek otu diyeti ile beslenen balık gruplarında hematokritin arttığı lökosit sayısının değişmediği belirlenmiştir.

Bu çalışmada ise 20. günde pelin otu ile beslenen gruplarda lökosit sayımında %2 gruplarının kontrol grubu ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Eritrosit sayısının 20. günde %0.5, %0.1 ve 1000 mg/kg gruplarında, 45. günde ise %2, 250 mg/kg ve 1000 mg/kg gruplarında kontrol grubu ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Hematokrit (%) değerinin 20. günde 1000 mg/kg gruplarında, 45. günde ise %2 %0.1 ve 250 mg/kg gruplarında kontrol ve diğer gruplardan daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışmada hematolojik bulgular bakımından 20. günde %2 grubunda lökosit sayımı ve hematokrit değerlerinde artışlar nedeniyle sırasıyla Awad ve Austin (2010) ve Dorucu vd. (2009)' a benzer, Treves-Brown (2000)' dan farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Terzioğlu ve Diler (2016) tarafından *Echinacea angustifolia* Hell)' nın %1 ve %0.1 olmak üzere 2 farklı konsantrasyonunun gökkuşacağı alabalıklarında spesifik olmayan bağışıklık sistemi üzerine etkisini tespit etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, çalışmanın 20.gününde %1 grubunda NBT aktivitenin arttığı, %0.1' de ise kontrole benzer olduğu, 45.günde ise her 2 grupta da kontrole göre NBT aktivitenin önemli seviyede arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada da 20. günde NBT aktivitenin artmaya başladığı 45. günde ise kontrole göre %2, %1, %0.5, %0.1, 250 mg/kg, 1000 mg/kg gruplarında kontrole göre önemli seviyede artmış olması Terzioğlu ve Diler (2016)' nın bulgularını desteklemiştir.

Table 2. 20 ve 45. günlerde *A. vulgaris*' in gökkuşağı alabalıklarında hematolojik ve immünolojik parametreler üzerine etkisi

Table 2. Effect of *A. vulgaris* on hematologic and immunological parameters in rainbow trout at 20 and 45 days

	Günler	% 2	% 1	% 0,5	% 0.1	250 mg/kg	1000 mg/kg	KONTROL
Lökosit Sayısı ($\times 10^5/\mu\text{L}$)	20	0.168 \pm 0.11 ^b	0.90 \pm 0.03 ^{bc}	0.143 \pm 0.06 ^{bc}	0.097 \pm 0.02 ^{bc}	0.065 \pm 0.03 ^a	0.093 \pm 0.04 ^{bc}	0.088 \pm 0.02 ^{bc}
	45	1.125 \pm 0.15	1.300 \pm 0.63	1.175 \pm 0.38	1.550 \pm 0.64	1.075 \pm 0.50	1.275 \pm 0.28	1.000 \pm 0.21
Eritrosit Sayısı ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	20	0.098 \pm 0.04 ^{ab}	0.080 \pm 0.03 ^a	0.173 \pm 0.01 ^c	0.150 \pm 0.02 ^c	0.085 \pm 0.04 ^a	0.135 \pm 0.04 ^{bc}	0.103 \pm 0.02 ^{ab}
	45	0.238 \pm 0.06 ^b	0.118 \pm 0.04 ^a	0.133 \pm 0.03 ^a	0.135 \pm 0.26 ^a	0.178 \pm 0.06 ^{ab}	0.165 \pm 0.05 ^{ab}	0.115 \pm 0.19 ^a
Hemotokrit (%)	20	35.25 \pm 4.64 ^{ab}	33.50 \pm 1.29 ^a	38.50 \pm 2.64 ^{ab}	35.75 \pm 0.95 ^{ab}	33.00 \pm 4.08 ^a	39.75 \pm 5.25 ^c	36.75 \pm 1.70 ^{ab}
	45	45.75 \pm 1.18 ^c	35.50 \pm 2.59 ^a	38.25 \pm 0.75 ^{ab}	45.50 \pm 1.32 ^c	44.75 \pm 1.10 ^c	40.50 \pm 2.39 ^{abc}	41.75 \pm 2.65 ^{bc}
NBT (+) Hücre Sayısı	20	3.25 \pm 1.25 ^a	19.00 \pm 5.20 ^c	4.40 \pm 2.08 ^a	14.30 \pm 5.15 ^b	4.55 \pm 1.40 ^a	4.60 \pm 2.01 ^a	1.65 \pm 0.66 ^a
	45	3.55 \pm 0.77 ^{bc}	3.70 \pm 0.93 ^{bc}	2.30 \pm 0.66 ^b	2.60 \pm 1.24 ^{bc}	4.20 \pm 0.28 ^c	3.90 \pm 2.12 ^{bc}	0.30 \pm 0.11 ^a
Lizozim Aktivitesi (cm)	20	7.00 \pm 1.73 ^b	10.67 \pm 0.58 ^c	9.00 \pm 1.00 ^{bc}	8.00 \pm 2.65 ^b	9.00 \pm 1.00 ^{bc}	9.00 \pm 0.00 ^{bc}	4.00 \pm 0.00 ^a
	45	10.67 \pm 0.58 ^{ab}	11.00 \pm 3.46 ^{ab}	8.00 \pm 1.00 ^{ab}	11.67 \pm 2.08 ^b	10.00 \pm 1.73 ^{ab}	11.33 \pm 0.58 ^b	7.00 \pm 3.46 ^a
Fagositik Aktivite	20	-	-	-	-	-	-	-
	45	2.286 \pm 0.28 ^d	2.073 \pm 0.07 ^{cd}	2.867 \pm 0.03 ^e	2.119 \pm 0.12 ^{cd}	1.759 \pm 0.19 ^b	1.983 \pm 0.02 ^{bc}	1.428 \pm 0.08 ^a

Tablo 3. Gökkuşığı alabalıklarında *A. vulgaris*' in koruyuculuk değerleri (RPS) ve ölüm oranları**Table 3.** Relative percent survival (RPS) and mortality of *A. vulgaris* in rainbow trout

	MORTALİTE (%)	RPS
% 2	0 ±0.00 ^a	100 ±0.00 ^c
% 1	0 ±0.00 ^a	100 ±0.00 ^c
% 0,5	9.33 ±2.30 ^b	81.74 ±4.19 ^b
% 0.1	13.33 ±2.30 ^c	73.73 ±5.52 ^b
250	22.67 ±2.30 ^d	55.47 ±5.44 ^a
1000	4.00 ±4.00 ^a	91.99 ±8.16 ^c
Kontrol	51.00 ±1.73 ^c	-

Lizozim aktivitesinin ise 20. ve 45. günlerde kontrole göre tüm gruplarda artmış olduğu, en etkili grupların %0,1 ve 1000 mg/kg olduğu görülmüştür. Bu çalışmada spesifik olmayan bağışıklığın iki önemli parametresi olan lizozim ve NBT aktivitelerinin 45. günde pelin otu ile beslenen bütün gruplarda artış göstermiş olup dolayısı ile bulgularımız söz konusu parametrelerin birbiri ile bağlantılı olarak artabileceği görüşünü (Pratheepa ve Sukumaran, 2014) desteklemiştir.

Fagositik aktivitenin tüm gruplarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığı ve en yüksek aktivitenin %0.5 ve %0.1 dozlarında olduğu bulunmuştur. Pelin otunun gökkuşığı alabalıklarında hematolojik ve immunolojik parametreleri olumlu olarak etkilediği tespit edilen bu çalışmadaki bulgular, Bilen vd. (2013), Ndong ve Fall (2011) ve Dorucu vd. (2009)' un bulgularını desteklemiştir.

Diler vd. (2016), gökkuşığı alabalıklarında yeme ilave edilen *Origanum onites* uçucu yağının 0.125, 1.5 and 2.5 mL/kg oranlarının gökkuşığı alabalıklarda mortaliteyi azalttığı 3.0 mL/kg grubunda ise *L. garvieae*' ye karşı %100 yaşama oranı sağladığını tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışma da Diler vd. (2014), *Origanum vulgare* ile beslenen gökkuşığı alabalıklarında *Lactococcus vulgare* ve *Vibrio anguillarum* patojenlerine karşı direnç meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Terzioğlu (2012), %0.1 ve %1 oranında yaban mersini ilave edilen yemlerle beslenen gökkuşığı alabalıklarında lizozim aktivitesini arttığını ve *Vibrio anguillarum* ile deneysel enfeksiyon uygulaması sonrası yaşama oranının yükseldiğini tespit etmiştir.

Sahu vd. (2007), *Lobelia rohita*' larda sarımsağın (*Allium sativum*) bağışıklık sistemi ve hastalıklara karşı direnç üzerine etkisinin incelendiği çalışmada %0 (kontrol), %0.1, %0.5, %1.0 oranlarında sarımsak (*Allium sativum*) ilave edilmiş yemlerle beslenmişlerdir. Sarımsak ilave edilmiş diyetle

beslenen balıklarda kontrole göre serum bakteriyel aktivitesi, lizozim, serum protein ve albüminin arttığı ve 60 gün sonra *Aeromonas hydrophila* ile yapılan deneysel enfeksiyon sonrası yaşama oranlarının kontrol grubuna göre artmış olduğu belirlenmiştir.

Awad ve Austin (2010), yaptıkları çalışmada gökkuşığı alabalıklarını % 1 oranında *Lupinus perennis*, *Mangifera indica* ve *Urtica dioica* ile beslemişler ve 14 gün sonra *Aeromonas hydrophila* ile yapılan deneysel enfeksiyon uygulaması sonrasında ölüm oranında azalma olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda gökkuşığı alabalığına uygulanan deneysel enfeksiyon sonrası %1 ve %2 oranında pelin otu ile beslenen grupların diğer gruplara göre *Vibrio anguillarum*' a karşı %100 yaşama oranı sağladığı görülmüştür. Pelin otunun *V. anguillarum*' a karşı direnç oluşturması nedeniyle bulgularımız Diler vd. (2016), Diler vd. (2014), Terzioğlu (2012), Sahu vd. (2007) ve Awad ve Austin (2010)' in yaptığı çalışma sonuçlarını desteklemiştir.

Sonuç

Sonuç olarak bu çalışmada, pelin otu bitkisinin terpenoid bileşenler bakımından zengin olması nedeniyle *Vibrio anguillarum*' a karşı direnç sağladığı, ayrıca pelin otunun lizozim aktivitesi, fagositoz aktivite ve NBT pozitif hücre sayısında artış sağlaması nedeniyle bağışıklık sistemini stimüle ettiği ve gökkuşığı alabalıklarında etkili bir immunostimulant olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir.

Teşekkür

Çalışmamıza 1120484 nolu Hızlı Destek projesi ile destek veren Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu TÜBİTAK 'a teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abad, M.J., Bedoya, L.M., Apaza, L., Bermejo, P. (2012). The *Artemisia* L. genus: a review of bioactive essential oils. *Molecules*, 17(3), 2542-2566.
- Abdel-Tawwab, M., Abdel-Rahman, A.M., Ismael, N.E. (2008). Evaluation of commercial live bakers' yeast, *Saccharomyces cerevisiae* as a growth and immunity promoter for Fry Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) challenged in situ with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 280(1), 185-189.
- Abdel-Tawwab, M., Ahmad, M.H., Seden, M.E., Sakr, S. F. (2010). Use of green tea, *Camellia sinensis* L., in practical diet for growth and protection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), against *Aeromonas hydrophila* infection. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(s2), 203-213.
- Altun, S. (2001). *Yersinia ruckeri* Suşlarının Bazı Antijenik ve Fenotipik Özelliklerinin Belirlenmesi. SDÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilimsel Doktora Tezi, 105s., Isparta.
- Anderson, D.P. (1992). Immunostimulants, adjuvants, and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases*, 2, 281-307.
- Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., Jeney, G. (2008). Chinese herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and boron enhance the non-specific immune response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 275(1), 26-33.
- Awad, E., & Austin, B. (2010). Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of Fish Diseases*, 33(5), 413-420.
- Baytop, T. (1984). Türkiye' de Bitkiler İle Tedavi. İstanbul Üniversitesi, s: 353, İstanbul.
- Baytop, A. (1998). İngilizce-Türkçe Botanik Klavuzu. İstanbul Üniversitesi Yayınları, ISBN: 9754044821, 9789754044829.
- Bilen, S., Bulut, M. (2010). Effects of laurel (*Laurus nobilis*) on the non-specific immune responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(8), 1275-1279.
- Bilen, S., Yılmaz, S., Bilen, A. M. (2013). Influence of tetra (*Cotinus coggygria*) extract against *Vibrio anguillarum* infection in koi carp, *Cyprinus carpio* with reference to haematological and immunological changes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(3), 517-522.
- Brisibe, E.A., Umoren, U.E., Brisibe, F., Magalhães, P.M., Ferreira, J.F., Luthria, D., Wu, X., Prior, R.L. (2009). Nutritional characterisation and antioxidant capacity of different tissues of *Artemisia annua* L. *Food Chemistry*, 115(4), 1240-1246.
- Citarasu, T. (2010). Herbal biomedicines: a new opportunity for aquaculture industry. *Aquaculture International*, 18(3), 403-414.
- Çağırğan, H. (2004). Levrek Yavrularında (*Dicentrarchus labrax* L., 1758) Vibriozise Karşı Aşı Geliştirilmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 21, 271-274.
- Davis, P.H. (1975). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol V., Edinburgh University Press, pp. 8-312.
- Diler, O., Gormez, O., Diler, A. (2014). Antimicrobial Activity of *Origanum vulgare* L. on Protection Against *Lactococcus garvieae* and *Vibrio anguillarum* in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum). 7th International Symposium on Aquatic Animal Health, August 31- September 4, Portland, Oregon USA.
- Diler, O., Gormez, O., Diler, I., Metin, S. (2016). Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture Nutrition*, 23(4), 844-851.
- Dorucu, M., Colak, S.O., Ispir, U., Altinterim, B., Celayir, Y. (2009). The effect of black cumin seeds, *Nigella sativa*, on the immune response of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 2(1), 27-33.

- Dülger, B., Ceylan, M., Alitsaous, M., Uğurlu, E. (1999). *Artemisia absinthium* L.(Pelin)' un antimikrobiyal aktivitesi. *Turkish Journal of Biology*, 23(3), 377-384.
- Ekici, S. (2010). Gökkuşığı Alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) Vibriosis' e Karşı Aşı Uygulanmasının Bağışıklık Sistemine Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Yetiştiriciliği ABD. Doktora Tezi. Isparta.
- Ellis, A.E. (1990). Lysozyme assays. *Techniques in Fish Immunology*, 1, 101-103.
- Ellis, A.E. (1999). Immunity to bacteria in fish. *Fish & Shellfish Immunology*, 9(4), 291-308.
- Galina, J., Yin, G., Ardo, L., Jeney, Z. (2009). The use of immunostimulating herbs in fish. An overview of research. *Fish Physiology and Biochemistry*, 35(4), 669-676.
- Goda, A. (2008). Effect of dietary Ginseng herb (Ginsana® G115) supplementation on growth, feed utilization, and hematological indices of Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), fingerlings. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(2), 205-214.
- Gorbach, S. L. (2001). Antimicrobial use in animal feed-time to stop. *N. Engl. J. Med.*, 345, 1202-1203.
- Hermann, J.R., Honeyman, M.S., Zimmerman, J.J., Thacker, B.J., Holden, P.J., Chang, C.C. (2003). Effect of dietary on viremia and performance in porcine reproductive and respiratory syndrome virus-infected nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 81(9), 2139-2144.
- Hoffmann, R., & Lommel, R. (1984). Effects of repeated blood sampling on some blood parameters in freshwater fish. *Journal of Fish Biology*, 24(3), 245-251.
- Irianto, A., Austin, B. (2002). Probiotics in aquaculture. *Journal of Fish Diseases*, 25(11), 633-642.
- Kesarcodi-Watson, A., Kaspar, H., Lategan, M.J., Gibson, L. (2008). Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274(1), 1-14.
- Keser, O., Bilal, T. (2008). Beta-glukanın hayvan beslemede bağışıklık sistemi ve performans üzerine etkisi. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(2), 107-119.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G. (1982). Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. Veteriner ve Hayvancılık Araştırma Grubu, Proje No: VHAG-557, 72s.
- Lin, Z. B., & Zhang, H. N. (2004). Anti-tumor and immunoregulatory activities of *Ganoderma lucidum* and its possible mechanisms. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25, 1387-1395.
- Ndong, D., Fall, J. (2011). The effect of garlic (*Allium sativum*) on growth and immune responses of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis aureus*). *Journal of Clinical Immunology and Immunopathology Research*, 3(1), 1-9.
- Pratheepa, V., Sukumaran, N. (2014). Effect of *Euphorbia hirta* plant leaf extract on immunostimulant response of *Aeromonas hydrophila* infected *Cyprinus carpio*. *PeerJ Journal*, 2, e671.
- Sahu, S., Das, B.K., Mishra, B.K., Pradhan, J., Sarangi, N. (2007). Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Journal of Applied Ichthyology*, 23(1), 80-86.
- Santos, Y., Bandin, I., Nunez, S., Gravningen, K., Toranzo, A. E. (1991). Protection of turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Richardson), against vibriosis using two different vaccines. *Journal of Fish Diseases*, 14(3), 407-411.
- Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G., Bekat, L., Leblebici, E. (2004). Tohumlu Bitkiler Sistematığı. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, s: 299. ISBN: 9754830282.
- Seeley, K.R., Gillespie, P.D., Weeks, B.A. (1990). A simple technique for the rapid spectrophotometric determination of phagocytosis by fish macrophages. *Marine Environmental Research*, 30(1), 37-41.

- Tanyer, G. (1985). Hematoloji ve Laboratuvarı. Ders Kitabı. Ankara Ayyıldız A.Ş.. 442s.
- Terzioğlu, S. (2012). Bazı tıbbi bitki türlerinin gökkuşağı alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*, walbaum) spesifik olmayan bağışıklık sistemi ve büyüme performansı üzerine etkisi. SDU Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Terzioğlu, S., Diler, Ö. (2016). Adaçayı (*Salvia officinalis* L.), meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra* L.), yaban mersini (*Vaccinium myrtillus* L.) ve ekinezyanın (*Echinacea angustifolia* Hell) gökkuşağı alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) spesifik olmayan bağışıklığa ve *Vibrio anguillarum* enfeksiyonuna etkisi. *Süleyman demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 12(2), 110-118.
- Teuber, M. (2001). Veterinary use and antibiotic resistance. *Current Opinion in Microbiology*, 4(5), 493-499.
- Treves-Brown, K.M. (2000). Applied fish pharmacology, Aquacultures series 3, Kluwer Academic Publishers, 309pp.
- Uluköy, G., Baba, E., Mammadov, R. (2009). Çipura Balığına (*Sparus aurata* L. 1758) Uygulanan Geofit Bitki Ekstraktlarının (*Muscari comosum* (L.) Mill., *Urginea maritima* (L.) Baker) Bazı Kan Parametreleri Üzerine Etkisi. 15. Ulusal Su Ürünleri Sempozyumu Bildiri Özetleri, Rize Üniversitesi. 01-04 Temmuz 2009, Rize.
- Xiang, X., Zhou, X.H. (2000). Application effect of Chinese herb medicine to aquatic animal feeds. *Cereal Feed Index*, 3, 27-29.

MOTILITY EVALUATION AND CRYOPRESERVATION OF FISH SPERM EXPOSED BY WATER-BORNE AND FOOD-BORNE BORON

Burak Evren İnanan¹ , Fevzi Yılmaz² 

Cite this article as:

İnanan B.E., Yılmaz, F. (2018). Motility Evaluation and Cryopreservation of Fish Sperm Exposed By Water-Borne and Food-Borne Boron. Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research, 4(1), 12-19. DOI: 10.3153/JAEFR18002

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

² Muğla Sıtkı Koçman University, Faculty of Science, Department of Biology, Muğla, Turkey

Submitted: 31.05.2017

Accepted: 23.11.2017

Published online: 21.12.2017

Correspondence:

Burak Evren İNANAN

E-mail:

burakinan@aksaray.edu.tr

Journal of Aquaculture Engineering
and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

4(1), 12-19 (2018)

DOI: 10.3153/JAEFR18002

ScientificWebJournals (SWJ)
©2015-2018

ABSTRACT

Boron (B) is required for organisms as an essential nutrient, whereas could be toxic in definite doses. In this study, for the first time, the effects of water-borne and food-borne B on fish sperm motility were initially determined and these sperm samples were cryopreserved in liquid nitrogen aiming to reveal how the quality of these samples are affected by cryopreservation. 12 mature male goldfish (*Carassius auratus*) individuals for each treatment performed in triplicate for 45 days were used in the study. Fish were fed with diets containing 1 mg, 5 mg and 10 mg of B per kg feed for foodborne experiments. In waterborne experiments, fish were kept in aquariums containing 1 mg/L, 10 mg/L and 20 mg/L of B. In both fresh and cryopreserved samples, the motility durations (s) and percentages of the sperm samples, vitality of spermatozoa (%) were determined. In the fresh samples, percentages of sperm motility and viability in the both B treatments decreased compared to the control, while increasing B concentration. After cryopreservation, the sperm samples in 5 mg of B per kg feed treatment has shown higher duration of sperm motility. Therefore, it is shown that feed-borne B could improve sperm resistance to cold shock.

Keywords: Boron, *Carassius auratus*, Sperm motility, Sperm vitality, Cryopreservation

Introduction

Boron (B) is a micro-mineral and a trace element, with properties between that of a metal and a nonmetal which is present in the environment (sedimentary rocks, soils, coal, seawater, etc.) in different forms such as borates, boric acid, boric oxide and salts (Samman *et al.*, 1998; Bustos-Obregon and Olivares, 2012; Kabu and Akosman, 2013). Commercially important deposits of boron-containing minerals are found in the United States, Turkey, South America, Russia, and China (Woods, 1994). There has been a long-standing usage of B. For instance, it was used by the ancient Egyptians in mummification and medicine. Nowadays, B minerals are used manufacture of glass fibers, ceramics, cleaning materials (detergents), bleaches, alloys, fire retardants, fertilizers, wood preservatives, cosmetics antifreeze, brake fluids and motor oil, particularly in the United States, China and Europe (Scialli *et al.*, 2010).

A limit of 0.3 mg B/L could be acceptable for drinking water (Simonnot *et al.*, 2000). Generally, surface and ground waters are below this limit but in the regions of borate mines and some industrial discharges B levels were determined around 7 mg/L. (Okay *et al.*, 1985; Recepoglu and Beker, 1991). On the other hand, the average concentration of B in seawater is approximately 5 mg/L (Song and Huang, 1987). Boron as borate compounds or boric acid is an essential element for plant growth, an essential nutrient in some animals and humans at defined concentrations (Blevins and Lukaszewski, 1994; Devirian and Volpe, 2003; Nielson, 2008). The toxicological studies in mammals have shown that the toxic effects of B on central nervous system, cardiovascular system, and axial skeleton. But the most sensitive endpoints originated from B toxicity are observed on the reproductive system where effects are detected at much lower dose levels (Ku *et al.*, 1993).

Cryopreservation as an assisted reproduction method is the use of very low temperatures (typically in liquid nitrogen) to preserve structurally intact living cells like spermatozoa (Pegg, 2007). Moreover, cryopreservation of sperm offers many advantages such as improving artificial reproduction, facilitating genetic manipulation (Chao and Liao, 2001). Conceptually, the procedure of cryopreservation could be divided into two main processes; the freezing and the thawing. These processes have potential to damage sperm cells especially associated with loss of integrity of cell membrane and oxidative stress (Suquet *et al.*, 1998). B has a part in cell membrane functions, anti-oxidative defense systems, structure of cell transporter, and cations metabolism, which are very critical for sperm quality (Goldbach *et al.*, 2001; Park *et al.*, 2004; Alavi and Cosson, 2006; Kabu and Akosman, 2013). Taking in consideration B functions in organisms, it

is motivated to study on the effects of B on sperm quality of fish, and cryopreservation of this sperm. Thus, this study aims to investigate the effects of water-borne and food-borne B at different concentrations on fish sperm quality, vitality of spermatozoa and mainly resistance to cryopreservation of sperm obtained from fish exposed by B.

Materials and Methods

Two hundred and fifty-two (1.5–2 years old, 7.8 ± 1.2 g, 18.6 ± 3.8 cm) male which were never stripped before and sexually mature sixty-three female goldfish (*Carassius auratus*) purchased from commercial dealer were used for experiments. Each treatment was done in three replicates using three aquariums of which each contains 45 liters of water with 12 male fish. The fish were kept 45 days in total in aquariums, last two weeks 3 females were put into each aquarium for matching and thereby making easier abdominal stripping of male fish. The experiments carried out the Aquarium Laboratory of Biology Department at Muğla S. K. University using with tap water (pH 7.97 ± 0.4 ; dissolved oxygen (DO) > 8 mg/L, and boron (B) concentration < 0.001 mg/L) at $16 \pm 0.5^\circ\text{C}$ on a 10-h dark and 14-h light (10D:14L) photoperiod. After putting the female fish, temperature of the aquarium water gradually increased to $22 \pm 0.5^\circ\text{C}$ on 8D:16L photoperiod during the last two weeks of the experiments. Thus, any hormone injections were avoided when obtaining sperm samples. DO and pH were measured with a portable HQ40D multimeter (Hach Lange, Germany) and a micro pH meter (WTW pH 320, Germany) respectively while B concentrations were determined by an ICP-MS procedure (Agilent 7700x, Germany) described as in Genç *et al.* (2015).

Besides the control groups which fed with B free pellets and in aquariums with tap water, the experimental design was composed of two main groups; food-borne and water-borne groups. All fish were fed daily with 2 mm feed pellets of around 2% of total fish wet weight. The water-borne B treatments were obtained adding 1, 10 and 20 mg/L of B concentrations to the aquariums. However, the pellets contained 1, 5 and 10 mg/kg of B concentrations were used in the food-borne B treatments. Each aquarium was supplied with tap or relevant B levels containing fresh water with 25% changes of it every two days and aeration to maintain enough DO. Eventually, together with the control group, there were seven treatments in the experimental design. In the food-borne B treatments, cornmeal oil (10 ml/kg feed) was used to bind B to the fish feed (Ardó *et al.*, 2008). The prepared feed was maintained at room temperature. B concentrations were adjusted using with boric acid (H_3BO_3 , Sigma-Aldrich, Germany) in all experiments. The condition factor (K)

of the experimental fish was estimated from the relationship: $K = (W/L^3) * 100$ (Bagenal and Tesch, 1978).

The fish fasted for 24 h before the start of the experiments were anaesthetized in 50 µl/L of clove oil (Öğretmen *et al.*, 2014). Sperm samples were collected by manual abdominal stripping by the help of pipette while avoiding any contamination from water, urine or faeces.

Sperm samples of 3 males were selected from each aquarium and then totally 9 samples were pooled as representative of each treatment. The motility characteristics of the pooled samples of spermatozoa (expressed as durations and percentages) were estimated by mixing an activation solution containing 45 mM NaCl, 5 mM KCl, and 30 mM Tris-HCl, pH8.2 (Horváth *et al.*, 2003) under a light microscope at 400× magnification at a semen:activation solution ratio of 1:100 on microscope slides.

Eosin-nigrosin staining for vitality of spermatozoa (%) was performed according to the concept of using eosin to mark dead cells, which take up eosin, and nigrosin as a black background (Blom, 1950). 10 µl of semen was mixed in a glass tube with firstly 50 µl of 0.5 % eosin and then 100 µL of 10% nigrosin which dissolved in 0.9 % sodium chloride in distilled water (modified from Björndahl *et al.*, 2003).

Following the stripping and pooling of the semen samples, they were placed in 12-ml glass test tubes on ice immediately under aerobic conditions. The pooled semen samples were mixed in a ratio of 1:9 (v/v) with an extender composed of modified Kurokura solution (62 mMol NaCl, 134 mMol KCl, 2 mMol CaCl₂, 1 mMol MgCl₂, and 2 mMol NaHCO₃, pH 8.2, 378 mOsm), 10% DMSO, and 10% egg yolk (Magyary *et al.*, 1996). After dilution, the samples were drawn into 0.25 ml straws (IMV, France) and sealed with polyvinyl alcohol. Next, the straws were placed on a rack 2.5 cm above a liquid nitrogen surface for 10 min and then plunged directly into the liquid nitrogen. At least seven straws per a sperm sample were frozen. After a week of storage in liquid nitrogen, the samples were thawed in a 30°C water bath for 10 s. the activation solution described above was also used to evaluate for the motility characteristics of cryopreserved samples. A 1 µl drop of sample was placed on a microscope slide, 100 µl of the activation solution was added, and then the sperm suspensions were thoroughly mixed for 2 s. The percentages of motile sperms and motility durations were immediately recorded with a CCD video camera (with a Nikon DS-U3 controller, Japan) mounted on a phase-contrast microscope (Nikon Ci-S, Japan) at 400× magnification at room temperature until the spermatozoa trajectories become tight concentric circles (Rurangwa *et*

al., 2004). The obtained video records were scanned to determine the percentages of progressive motility (%) and the durations of progressive motility (s). The sperm motility percentages were estimated as the percentage of cells that exhibited progressive forward movement (Horváth *et al.*, 2003), and the durations of motility were determined as the times until forward movement stopped and circular movement began. The percentages of sperm motility were assessed using an arbitrary scale with 10% interval increments in which non-motility was recorded as 0% (modified from Borges *et al.*, 2005). An aliquot of each straw were determined, and the average motility characteristics were then calculated.

The results are shown as the means ± the standard deviation (SD). Non-parametric Mann-Whitney U tests followed by Kruskal-Wallis test were used. Prior to analysis, the original percentage data were transformed by arcsine transformation. P values less than .05 were taken to indicate significant differences the treatments in terms of motility characteristics.

Results and Discussion

As an essential nutrient, B is a necessary dietary for not just to metabolisms of bacteria, fungi, plants, animals and but also to humans (Hunt, 1994; Goldbach *et al.*, 2001). B, like other microelements, could be toxic in definite doses, depending on how organisms taken in (Blevins and Lukaszewski, 1994). The effects have been confirmed in many experiments and studies on organ systems as well as reproduction system. In some mammalian species such as rats, mice, and dogs, the negative effects of oral administration of boric acid and borax were reported on the testis and following on sperm and spermiation (Scialli *et al.*, 2010). It has been clearly indicated the nutritional essentiality of boron for normal reproduction and maturation in frog (*Xenopus laevis*) (Fort *et al.*, 1999). Also, the requirement of B during embryonic development zebrafish (*Danio rerio*) has been reported clearly. A supplementation of B concentration of 45 µmol/L of B supplementation to the water improved hatching rates of fertilized eggs, comparing to 0.1 µmol/L of B concentration in water (Rowe and Eckhert, 1999). Moreover, male reproductive studies especially about their semen characteristics of B-exposed workers, who work in boric acid production plant, B processing plants or B mine in China and Turkey, has revealed the scientific awareness of B effects on reproduction (Duydu *et al.*, 2012; Başaran *et al.*, 2012; Scialli *et al.*, 2010).

Regarding to K values, there were no significant differences among the groups (P > 0.05) at both the beginning which is

not represented and the end of the experiment (Figure 1). The average K values in the control were found 3.94 ± 0.79 . K values were calculated in water-borne treatments as 4.01 ± 1.20 , 3.91 ± 1.12 and 3.42 ± 0.65 , respectively in 1, 10 and 20 mg/L of B groups while 3.49 ± 0.98 , 4.91 ± 1.92 and 4.19 ± 1.36 were found for food-borne treatments 1, 5 and 10 mg/kg of B, respectively.

The percentages of sperm vitality obtained from samples at the end of the experiment were represented in Figure 2. Sperm vitality was found in the control as 97.2 ± 0.6 %. In contrast to K values, there were significant differences among the percentages of sperm vitality ($P \leq 0.05$). Increasing with the B concentration, a decrease in sperm vitality was observed. In water-borne groups, sperm vitality values were calculated 92.5 ± 0.4 , 88.0 ± 0.8 and 84.1 ± 0.2 % as 1, 10 and 20 mg/L of B groups, respectively. In food-borne groups (1, 5 and 10 mg/kg of B groups), the average values of sperm vitality were found 91.8 ± 2.3 , 83.0 ± 0.5 and 81.0 ± 1.6 %, respectively.

Motility percentages and durations of both fresh pooled and post-thaw sperm samples treated by boron (B) with water-

borne (1, 10 and 20 mg/L of B in water) and food-borne (1, 5 and 10 mg/kg of B in pellets) were shown in Table 1, comparing with the control. The average motility percentages and durations of the fresh sperm sample in the control were 91.7 ± 2.9 % and 58.3 ± 2.9 s, respectively. Percentages of progressive motility were recorded as 66.7 ± 5.8 and 58.3 ± 2.9 % in 20mg/L B and 10mg/kg B groups, respectively. In the treatments, motility percentages were decreased while B concentrations were increased for both water-borne and food-borne groups. This pattern was not observed in motility durations. The highest average of progressive motility percentage was found in 1mg/L of B group as 62.7 ± 1.2 %. After the application of cryopreservation, the average motility percentage and duration were recorded 48.3 ± 2.9 % and 33.0 ± 2.6 s in the control. No significant difference was found among the water-borne groups in terms of post-thaw progressive motility values. Among the cryopreserved samples obtained from the food-borne groups, the highest motility percentage and duration were in the 5 mg/kg of B as 53.3 ± 5.8 % and 40.3 ± 2.5 s. Especially the average of progressive motility duration determined in this treatment was higher than the value in the control ($P \leq 0.05$).

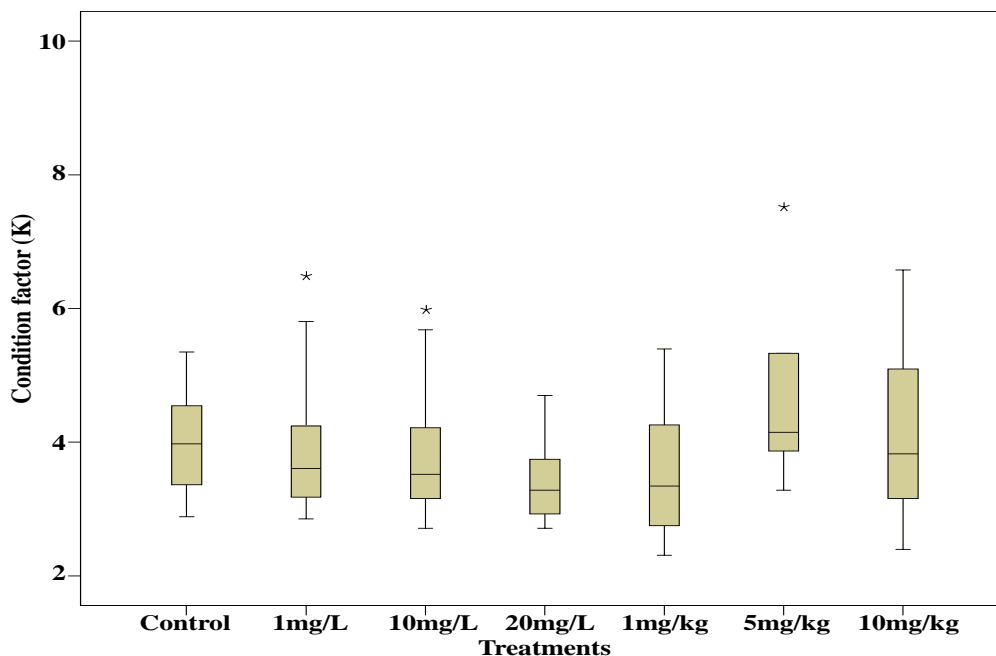


Figure 1. The condition factor (K) of the male fish in the control and the treatments (water-borne; 1, 10 and 20 mg/L of B in water and food-borne; 1, 5 and 10 mg/kg of B in pellets) at the end of the experiment. No significant differences were found among the groups ($n=36$ for each group, $P > 0.05$). The box plot represents the median and 25/75th percentile, whereas asterisks indicate outliers.

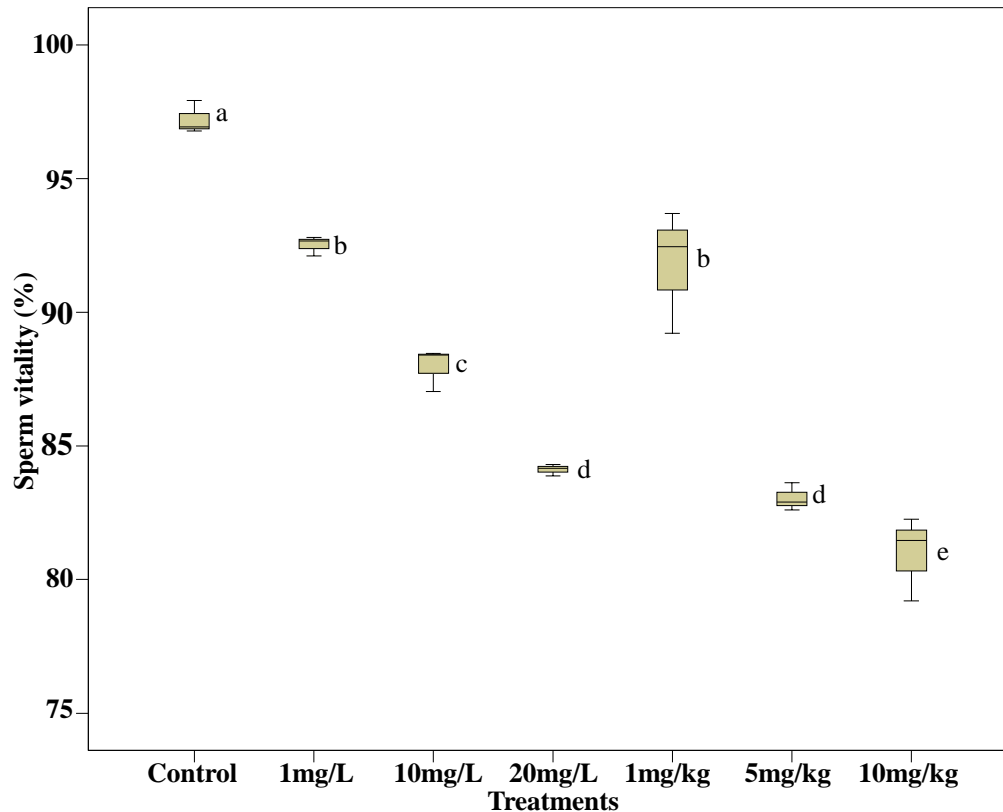


Figure 2. The percentages of sperm vitality (%) of the male fish in the control and the treatments (water-borne; 1, 10 and 20 mg/L of B in water and food-borne; 1, 5 and 10 mg/kg of B in pellets) at the end of the experiment. The same superscript letters did not differ from each other (n=36 for each group, P ≤ 0.05). The box plot represents the median and 25/75th percentile.

Table 1. Motility percentages (%) and durations (s) of fresh pooled and post-thaw sperm samples of goldfish (*C. auratus*) treated by boron (B) with water-borne (1, 10 and 20 mg/L of B in water) and food-borne (1, 5 and 10 mg/kg of B in pellets).

Treatments	Fresh Pooled Sperm Samples		Post-thaw Sperm Samples	
	Progressive motility (%)	Duration of progressive motility (s)	Progressive motility (%)	Duration of progressive motility (s)
Control	91.7±2.9 ^a	58.3±2.9 ^a	48.3±2.9 ^a	33.0±2.6 ^a
1mg/L	83.3±2.9 ^{ad}	62.7±1.2 ^b	25.0±5.0 ^b	18.7±1.5 ^b
10mg/L	86.7±2.9 ^a	54.7±1.5 ^a	36.7±5.8 ^b	34.0±6.6 ^{ad}
20mg/L	66.7±5.8 ^{bc}	44.3±2.5 ^c	31.7±2.9 ^b	23.7±2.1 ^c
1mg/kg	85.0±5.0 ^{ae}	51.3±1.2 ^d	48.3±2.9 ^a	32.3±2.1 ^a
5mg/kg	73.3±5.8 ^{bde}	56.0±1.0 ^a	53.3±5.8 ^a	40.3±2.5 ^d
10mg/kg	58.3±2.9 ^c	49.3±1.2 ^d	33.3±2.9 ^b	33.3±1.2 ^a

It has been shown that B supplemented diets improve testis weight in Frog (Fort *et al.*, 1999). In general, percentages of sperm vitality significantly decreased with increasing B levels ($P \leq 0.05$). The lowest percentage of sperm vitality was observed in 10 mg/kg of B in food-borne treatments. The negative effects of B levels on progressive motility percentages were recorded in fresh sperm samples ($P \leq 0.05$). Like sperm vitality, the lowest percentage of sperm motility was found in 10 mg/kg of B treatment. Similarly, a decrease in motility percentages was also reported in frog and some mammalian species (Fort *et al.*, 1999; Scialli *et al.*, 2010). In humans, no adverse effects of B on male reproduction can be demonstrated (Liu *et al.*, 2005; Duydu *et al.*, 2012). However, it was emphasized that the possibility of a bias in the selection of subjects for semen evaluation may have been emerged (Scialli *et al.*, 2010). Also, B exposures of selected subjects could be under the conditions of human handling and use (Bolt *et al.*, 2012).

Additionally, results of our study showed that durations of progressive motility were also decreased with the exception of the highest motility durations in 1 mg/kg of B food-borne group, even higher than the control slightly but significantly ($P \leq 0.05$). In cryopreserved sperm samples, while percentages of progressive motility were close, duration of progressive motility recorded in 5 mg/kg of B food-borne group higher than those values in control significantly. B functions, particularly at cell level, could induce this positive effect on motility duration. Cellular membrane functions of B and its role in anti-oxidative defense systems have been suggested clearly in plants (Goldbach *et al.*, 2001; Cakmak and Römheld, 1997). Whereas B functions in plants are well documented, its functions in animals have been started to study lately. For instance, it was shown that a boron transporter, called NaBC1, as mammalian homologue of the AtBOR1 borate transporter, occurring ubiquitously in animal cell membranes (Park *et al.*, 2004), This NaBC1 transporter conducts Na^+ which one of the major cations in semen (Alavi and Cosson, 2006) and in the absence of borate. Also, B has effects on energy metabolism and Ca^{++} and Mg^{++} metabolisms which are substantial for sperm motility (Alavi and Cosson, 2006; Kabu and Akosman, 2013).

Conclusion

In essence, results of our study showed that the motility characteristics of sperm of *C. auratus* were inhibited by exposing to water-borne and food-borne B. On the other hand, after cryopreservation of the samples, the motility characteristics in the 5 mg/kg of B from the food-borne groups were improved, comparing with the control group signifi-

cantly. Regarding the observable effects of B on sperm quality, using of B in studies on reproductive biology and fish as a model species are to encourage for further studies. Our study suggest the need for further studies of *in vitro* effect of B on quality of sperm, particularly adding B to cryomedium at low doses. Furthermore, analysis of oxidative stress of semen samples treated by B and also determining the accumulation of B in gonadal tissue and semen are needed to be studied.

Acknowledgements

This research was supported by Grant No. 12/51 from the Muğla Sıtkı Koçman University Research Fund. The authors would like to thank Assoc. Prof. Dr. Murat Yabancı from Muğla Sıtkı Koçman University for his help to the research.

References

- Alavi, S.M., Cosson, J. (2006). Sperm Motility in Fishes. (II) Effects of Ions and Osmolality: a Review. *Cell Biology International*, 30(1), 1-14.
- Ardó, L., Yin, G., Xu, P., Váradi, L., Szigeti, G., Jeney, Z., Jeney, G. (2008). Chinese Herbs (*Astragalus membranaceus* and *Lonicera japonica*) and Boron Enhance the Non-Specific Immune Response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Resistance Against *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 275, 26-33.
- Bagenal, T.B., Tesch, F.W. (1978). Age and growth. In: T.B. Bagenal (Ed.), *Methods for Assessment of Fish Production in Fresh Waters* (p. 101-136). Oxford: Blackwell Scientific Publications. ISBN 0632001259
- Başaran, N., Duydu, Y., Bolt, H.M. (2012). Reproductive Toxicity in Boron Exposed Workers in Bandırma. *Turkey Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26, 165-167.
- Björndahl, L., Söderlund, I., Kvist, U. (2003). Evaluation of the One-Step Eosin-Nigrosin Staining Technique for Human Sperm Vitality Assessment. *Human Reproduction*, 18(4), 813-816.
- Blevins, D.G., Lukaszewski, K.M. (1994). Proposed Physiologic Functions of Boron in Plants Pertinent to Animal and Human Metabolism. *Environmental Health Perspectives*, 102(7), 31-33.

- Blom, E. (1950). A One-Minute Live-Dead Sperm Stain by means of Eosin- Nigrosin. *Fertility and Sterility*, 1, 176-177.
- Bolt, H.M., Başaran, N., Duydu, Y. (2012). Human environmental and occupational exposures to boric acid: reconciliation with experimental reproductive toxicity data. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(8-10), 508-514.
- Borges, A., Siqueira, S.R., Jurinitz, D.F., Zanini, R., Amara, F., Grillo, M.L., Oberst, E.R., Wassermann, G.F. (2005). Biochemical Composition of Seminal Plasma and Annual Variations in Semen Characteristics of *Jundia Rhamdia quelen* (Quoy and Gaimard, Pimelodidae). *Fish Physiology and Biochemistry*, 31, 45-53.
- Bustos-Obregon, E., Olivares, C. (2012). Boron as Testicular Toxicant in Mice (*Mus domesticus*). *International Journal of Morphology*, 30(3), 1106-1114.
- Cakmak, I., Römheld, V. (1997). Boron Deficiency-induced Impairments of Cellular Functions in Plants. *Plant and Soil*, 193, 71-83.
- Chao, N., Liao, I.C. (2001). Cryopreservation of Finfish and Shellfish Gametes and Embryos. *Aquaculture*, 197, 161-189.
- Devirian, T.A., Volpe, S.L. (2003). The Physiological Effects of Dietary Boron. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 43, 219-231.
- Duydu, Y., Başaran, N., Üstündağ A., Aydın, S., Ündeğer, Ü., Ataman, O.Y., Aydos, K., Düker, Y., Ickstadt, K., Waltrup, B.S., Golka, K., Bolt, H.M. (2012). Assessment of DNA Integrity (COMET assay) in Sperm Cells of Boron-exposed Workers. *Archives of Toxicology*, 86, 27-35.
- Fort, D.J., Stover, E.L., Strong, P.L., Murray, F.J. (1999). Effect of Boron Deprivation on Reproductive Parameters in *Xenopus laevis*. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 12, 187-204.
- Genç, T.O., İnanan, B.E., Yabancı, M., Yılmaz, F. (2015). The Aggregation of Boron on the Tissues of Gold Fish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 3(6), 498-503.
- Goldbach, H.E., Yu, Q., Wingender, R., Schulz, M., Wimmer, M., Findeklee, P., Baluska, F. (2001). Rapid Response Reactions of Roots to Boron Deprivation. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164, 173-181.
- Horváth, A., Miskolczi, E., Urbanyi, B. (2003). Cryopreservation of Common Carp Sperm. *Aquatic Living Resources*, 16, 457-460.
- Hunt, C.D. (1994). The Biochemical Effects of Physiologic Amounts of Dietary Boron in Animal Nutrition Models. *Environmental Health Perspectives*, 102(7), 35-42.
- Kabu, M., Akosman, M.S. (2013). Biological Effects of Boron. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 225, 57-75.
- Ku, W.W., Chapin, R.E., Wine, R.N., Gladen, B.C. (1993). Testicular toxicity of boric acid (BA): relationship of dose to lesion development and recovery in the F344 rat. *Reproductive Toxicology*, 7, 305-319.
- Liu, P., Wang, C., Hu, J., Xun, L., Robbins, W.A., Wu, G. (2005). Preliminary study on pregnancy outcome of spouses of boron workers. *Chinese Journal of Public Health*, 21(5), 567-568.
- Magyary, I., Urbanyi, B., Horvath, L. (1996). Cryopreservation of Common Carp (*Cyprinus carpio* L.) Sperm II. Optimal Conditions for Fertilization. *Journal of Applied Ichthyology*, 12, 117-119.
- Nielson, F.H. (2008). Is Boron Nutritionally Relevant? *Nutrition Reviews*, 66, 183-191.
- Okay, O., Güçlü, H., Soner, E., Balkas, T. (1985). Boron Pollution in the Simav River, Turkey and Various Method of Boron Removal. *Water Research*, 19(7), 857-862.
- Öğretmen, F., Gölbaşı, S., İnanan, B.E., Kizak, V., Kayim, M. (2014). Use of Clove Oil and Eugenol to Anesthetize Fingerling Shabut *Barbus grypus*. *North American Journal of Aquaculture*, 76(1), 9-13.
- Park, M., Li, Q., Shcheynikov, N., Zeng, W.Z., Muallem S. (2004). NaBC1 Is a Ubiquitous Electrogenic Na⁺-coupled Borate Transporter Essential for Cellular Boron

- Homeostasis and Cell Growth and Proliferation. *Molecular Cell*, 16(3), 331-341.
- Pegg, D.E. (2007). Principles of Cryopreservation. *Methods in Molecular Biology*, 368, 39-57.
- Recepoğlu, O., Beker, U. (1991). A Preliminary Study of Boron Removal From Kızıldere/Turkey Geothermal Waste Water. *Geothermics*, 20(1/2), 83-89.
- Rowe, R.I., Eckhert, C.D. (1999). Boron Is Required For Zebrafish Embryogenesis. *Journal of Experimental Biology* 202, 1649-1654.
- Rurangwa, E., Kime, D.E., Ollevier, F., Nash, J.P. (2004). The Measurement of Sperm Motility and Factors Affecting Sperm Quality in Cultured Fish. *Aquaculture*, 234, 1-28.
- Samman, S., Naghii, M.R., Lyons Wall, P.M. & Verus, A.P. (1998). The Nutritional and Metabolic Effects of Boron in Humans and Animals. *Biological Trace Element Research*, 66, 227-235.
- Scialli, A.R., Bonde J.P., Brüske-Hohlfeld, I., Culver, B.D., Li, Y., Sullivan, F.M. (2010). An Overview of Male Reproductive Studies of Boron With an Emphasis on Studies of Highly Exposed Chinese Workers. *Reproductive Toxicology*, 29, 10-24.
- Simonnot, M., Castel, C., Nicolaiè, M., Rosin, C., Sardin, M., Jauffret, H. (2000). Boron Removal From Drinking Water With a Boron Selective Resin: Is The Treatment Really Selective? *Water Research*, 34(1), 109-116.
- Song, D., Huang, L. (1987). The Design of a 200 m³/d De-boronation System and its Field trials on Xisha Islands. *Water Treatment*, 2, 141-147.
- Strum, L.M.G. (1978). Aspects of the biology of *Scomberomorus maculatus* (Mitchill) in Trinidad. *Journal of Fish Biology*, 13, 155-172.
- Suquet, M., Dreanno, C., Petton, B., Normant, Y., Omnes, M.H., Billard, R. (1998). Long Term Effects of the Cryopreservation of Turbot (*Psetta maxima*) Spermatozoa. *Aquatic Living Resources*, 11, 45-48.
- Woods, W.G. (1994). An Introduction to Boron: History, Sources, Uses and Chemistry. *Environmental Health Perspectives*, 102(7), 5-11.

BATI KARADENİZ (ŞİLE-İĞNEADA) DİP TROL BALIKÇILIĞINDA AV KOMPOZİSYONU

Taner Yıldız , F. Saadet Karakulak 

Cite this article as:

Yıldız, T., Karakulak, F.S. (2018). Batı Karadeniz (Şile-İğneada) Dip Trol Balıkçılığında Av Kompozisyonu. *Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research*, 4(1), 20-34. DOI: 10.3153/JAEFR18003

İstanbul Üniversitesi, Su Bilimleri Fakültesi, Su Ürünleri Avlama Teknolojisi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Submitted: 20.07.2017

Accepted: 23.11.2017

Published online: 25.12.2017

Correspondence:

Taner YILDIZ

E-mail:

yldztnr@istanbul.edu.tr

Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

4(1), 20-34 (2018)

DOI: 10.3153/JAEFR18001

ScientificWebJournals (SWJ)
©2015-2018

ÖZ

Bu çalışmada, Batı Karadeniz dip trol balıkçılığında av kompozisyonunun belirlenmesi ve derinliğin av kompozisyonuna olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma verileri İğneada ve Rumeli Feneri bölgelerinde 2012-2013 ve 2013-2014 balıkçılık sezonlarında 66 dip trol çekiminden elde edilmiştir. Toplam 32 tür elde edilen avcılık operasyonlarında 20-50 m ve 50-100 m derinlik konturlarında tür kompozisyonunun ve av oranlarının farklı olduğu belirlenmiştir. Kemikli balıklar iki derinlik konturunda da tür sayısı, birey sayısı ve toplam ağırlık bakımından baskın gruptur. Hedef türler olan mezgit ve barbunya balıkları toplam avın ağırlıkça sırasıyla % 38.26 ve %22.88'ini oluşturmuştur. Çalışma sonuçları, ideal bir balıkçılık yönetiminin av kompozisyonunun ve koruma önceliklerinin iyi anlaşıldığı bir temele dayanması gerektiğini göstermektedir. Batı Karadeniz demersal kaynaklar bakımından en önemli balıkçılık alanlarından biridir ve uzun vadede bir sürdürülebilirlik için derinlik gibi faktörleri dikkate alan uzun süreli izleme çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Av kompozisyonu, Dip trolü, Derinlik, Batı Karadeniz

ABSTRACT

THE CATCH COMPOSITION OF BOTTOM TRAWL FISHING IN THE WESTERN BLACK SEA (ŞİLE-İĞNEADA)

In this study, the determination of catch composition in bottom trawling and effect of depth was aimed in the western Black Sea. Data was obtained by 66 bottom trawl hauls during 2012-2013 and 2013-2014 fishing periods in İğneada and Rumeli Feneri fishing regions. A total of 32 species were obtained where the species composition and catch rates were different between 20-50m and 50-100 m depth contours. Bony fishes are dominant group for both depth contours in terms of number of species, number of individuals, and total weight. Target species, whiting and red mullet, consisted of 38.26% and 22.88% of total catch by weight, respectively. The study results shows an optimal management should depends on a good understanding of how catch composition and conservation concern. Western Black Sea is one of the most important fishing ground in terms of demersal resources and long-term monitoring of trawl catch composition which emphasize factors like depth is needed for long term sustainability.

Keywords: Catch composition, Bottom Trawling, Depth, Western Black Sea

Giriş

Karadeniz'e özgü biyo-çeşitlilik içerisinde yer alan ve en büyük ticari değere sahip 24 tür bulunmaktadır (Shlyakhov ve Daskalov, 2009). Bu türler, 2000-2016 yıllarında arasında toplam avın yaklaşık %99.5'ini oluşturmuştur. Geriye kalan %0.5'lik kısım ticari değeri daha az olan balıklar ve diğer sucül organizmalar oluşturur (TÜİK, 2017). Karadeniz balıkçılık kaynakları temel olarak 3 gruba ayrılır: pelajik, demersal ve anadrom balıklar. Bu her bir grup içerisinde, avın %90'dan fazlası birkaç önemli türle temsil edilir. Karadeniz balıkçılığı perspektifinden en önemli demersal balıklar kalkan (*Psetta maxima*), mezgit (*Merlangius merlangus*), tekir ve barbun (*Mullus barbatus*, *M. surmuletus*) balıklarıdır. Ancak bu demersal balık türlerinin Karadeniz'de maksimum sürdürülebilir ürün (MSY) limitleri aşılmaktadır (STECF, 2015).

Balıkçılığın deniz ekosistemine etkilerinden muhtemelen en önemlisi bireylerin alıkonmasıdır (Pauly ve diğ., 2002). Avcılık hedef türlerin ve üretkenliği tehlikeye girebilen bazı hedef dışı türlerin ölüm oranlarını artırır ve ayrıca komünite demografisi ile besin zinciri topolojisi gibi yapı ve fonksiyonun stabilitesini bozar (Pikitch ve diğ., 2004). Örneğin, balıkçılık türlerin kısmi bolluğunu değiştirir ve ekosistemde seçilime yön veren bir ekti gibi rol oynar (Law, 2000), böylelikle komünite yapısı ve çeşitliliği değiştirir (Botsford ve diğ. 1997; Jennings ve Kaiser, 1998). Bu nedenle, hedef türlerin yanı sıra onlarla besin için rekabet edenler, predatörleri ve avları da yönetim planında veya balıkçılığın ekosisteme etkilerinin değerlendirilmesinde göz önünde bulundurulmalıdır. Bundan dolayı, balıkçılığın deniz ekosistemine olan etkisini gösteren en kullanışlı ölçü karaya çıkan ve ıskarta edilenleri içeren avdır (Rochet ve Trenkel, 2003).

Karadeniz bölgesinde ise temel problemlerden biri balıkçılık aktiviteleri, av miktarları ve kompozisyonları ve balık stoklarının mevcut durumuna balıkçılığın etkileri hakkındaki kapsamlı bilgilerin eksikliğidir. Bu nedenle, yıllık av miktarları ve kompozisyonları hakkındaki raporlar ciddi boşluklarla yayınlanır ve balık stoklarının mevcut durumu hakkındaki analizler yetersizdir (Raykov ve diğ., 2011). Bu çalışma da ise batı Karadeniz'de demersal kaynakların avcılığında önemli bir avcılık tekniği olan dip trol balıkçılığında av kompozisyonunun belirlenmesi amaçlanmıştır.

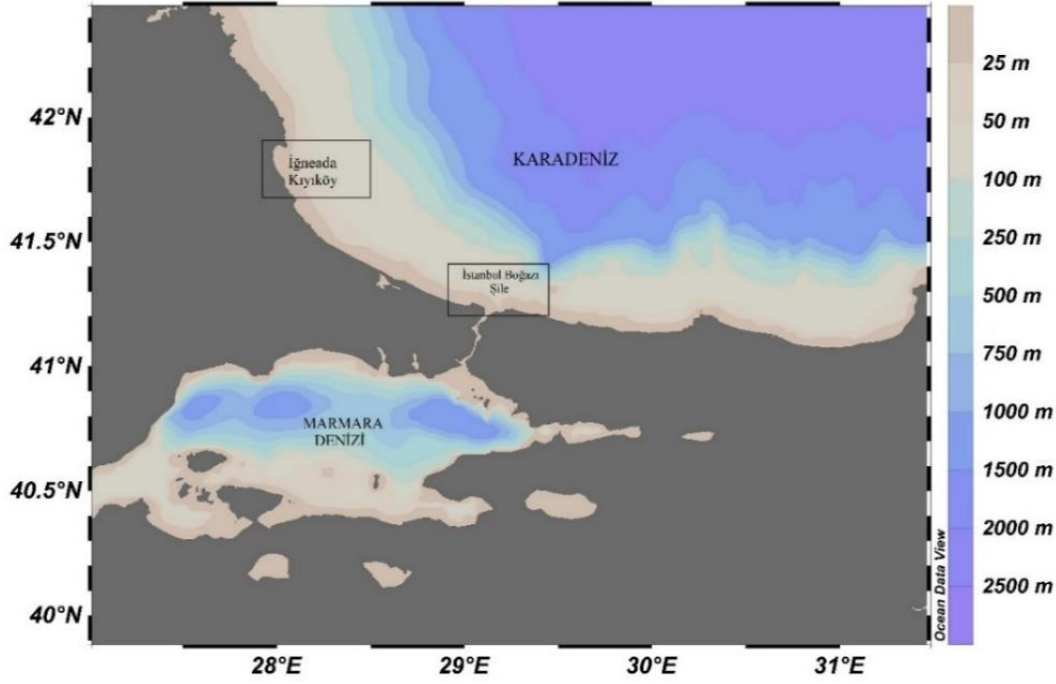
Materyal ve Metot

Bu çalışmada, İstanbul Boğazı-Şile ve İğneada-Kıyıköy bölgelerinde, 2012-2013 ve 2013-2014 balıkçılık sezonu bo-

yunca aylık periyotlar halinde ticari av tekneleri ile trol balıkçılığına iştirak edilmiştir. Rumeli Feneri ve İğneada balıkçı barınakları, Batı Karadeniz'de trol balıkçılığının yoğun olduğu balıkçı yerleşimleridir. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'nın yayınladığı 4/1 Numaralı Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığının Düzenlenmesi Hakkında Tebliğ (No: 2016/35)'e göre trol av sezonu Eylül ayının 15'i ile Nisan ayının 15'i arasında belirlenmiştir (Anon, 2016). Ancak bölgedeki trol balıkçıları Eylül aylarında palamut göçünü izleyerek trol balıkçılığı yerine uzatma ağlarıyla palamut balığı avcılığı yapmaktadır. Bu nedenle Eylül aylarında balıkçılık örneklemeleri alınamamıştır. Gerçekleştirilen trol çekimleri 20-50 m ve 50-100 m derinlik konturlarına göre değerlendirilmiştir. Toplamda 66 geçerli dip trolü avcılığında veriler kaydedilmiştir. Aylara ve derinliklere göre örnekleme sayıları Tablo 1'de gösterilmiştir. Trol çekimlerinin 17 adedi sonbahar, 30 adedi kış ve 19 adedi ilkbahar mevsiminde gerçekleştirilmiştir. 42 adet trol çekimi 20-50 m derinlik konturunda, 24 adet trol çekimi ise 50-100 m derinlik konturunda yapılmıştır. Trol çekimleri süresince çekim koordinatları, operasyon süreleri (saat), toplam av miktarları (kg) ve av kompozisyonu tekne üzerinde kaydedilmiştir. Çekim süreleri 1-2,5 saat arasında değişmiştir.

Çalışmada, avcılık operasyonlarına iştirak edilen iki ticari trol teknesinin toplam boyları 19 ile 21 m ve motor güçleri 700-822 HP arasındadır. Araştırmada kullanılan Akdeniz tipi alçak ağız açan klasik dip trol ağlarının toplam boyları 32-35 m, ağız genişliği 12-15 m, yüksekliği ise 0.8-1.2 m arasında değişmektedir. Trol ağlarının kollarında 55 mm tam göz boyunda ağlar kullanılırken, torba tam gözü açıklığı 40 mm, muhafaza tam göz açıklığı 80 mm olarak ölçülmüştür. Teknelerde kullanılan geleneksel trol kapıları dikdörtgen şeklindedir ve ağırlıkları yaklaşık 130-150 kg arasındadır.

Çekim sırasında tekne hızı ve başlangıç-bitiş koordinatları teknede bulunan ekosounder ve GPS satalayt yardımıyla tespit edilmiştir. Çekimler sonunda elde edilen toplam avı oluşturan türler birbirinden ayrılarak mümkün olan en alt taksonomik seviyede tayin edilmiştir. Ağdan çıkan ürünün çok fazla olduğu durumlarda, av kompozisyonunun belirlenmesi için alt örnekleme yapılmıştır (Avşar, 2005; Erko-yuncu, 1995). Alt örnekleme yapılan çekimlerde, ilk önce ağdan çıkan büyük boyutlu türler (vatoz, köpek balığı vb.) ve bireysel olarak temsil edilen türler ayrılmış daha sonra toplam avın tamamını temsil edecek şekilde bir ölçek (kasa ya da kova) alt örnek alınarak tasnif edilmiştir.



Şekil 1. Çalışma haritası ve çekim yapılan sahalar

Figure 1. Map of study and trawling fields

Tablo 1. Örnekleme sahaları ve derinlik konturlarına göre örnekleme sayıları.

Table 1. Sampling numbers according to sampling fields and depth contours

Yıl	Ay	İstanbul Boğazı-Şile		İğneda-Kıyıköy	
		Derinlik Konturu 20-50	Derinlik Konturu 50-100	Derinlik Konturu 20-50	Derinlik Konturu 50-100
2012	Ekim	1	2		
2012	Kasım	1	2	2	
2012	Aralık	2		2	
2013	Ocak	2		1	2
2013	Şubat	1	2	1	2
2013	Mart	1	2	1	2
2013	Nisan	2		2	
	Toplam	10	8	9	6
Yıl	Ay	İstanbul Boğazı-Şile		İğneda-Kıyıköy	
		Derinlik Konturu 20-50	Derinlik Konturu 50-100	Derinlik Konturu 20-50	Derinlik Konturu 50-100
2013	Ekim	1	2	2	
2013	Kasım	2		2	
2013	Aralık	2		2	
2014	Ocak	2		1	2
2014	Şubat	1	2	1	2
2014	Mart	1	2	2	
2014	Nisan	2		2	
	Toplam	11	6	12	4

Bulgular ve Tartışma

Toplam av içerisinde (6297,01 kg), kemikli balıkların (Osteichthyes) oranı ağırlıkça % 86.3 (5435.1 kg) olarak tespit edilmiştir (Tablo 2). Sayıca ise kemikli balıklar % 90.9 oranlık bir yüzde ile temsil edilmektedir. Diğer grupların ağırlıkça ve sayıca % oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Taksonomik gruplar, 20-50 m ve 50-100 m derinlik konturuna göre tür sayısı bakımından incelendiğinde kemikli balıklar diğer grupların toplamından daha fazla bir yüzdeyle temsil edilmektedir. Diğer bir deyişle, bölgedeki trol avcılığında kemikli balıklar baskın gruptur. Kıkırdaklı balıklar kemikli balıkların ardından ikinci sırada yer alır. Diğer grupların sıralaması iki derinlik konturunda farklılık göstermektedir. Avlanan türler incelendiğinde, tür çeşitliliğinin derinliğe bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Çalışma sahasında 20-50 m derinlik konturunda 32 tür, 50-100 m derinlikte ise 24 tür olmak üzere toplam 32 tür tespit edilmiştir (Şekil 2). ANOVA tek yönlü varyans analizi sonuçlarına göre iki derinlik konturunda av oranları istatistiksel olarak fark göstermektedir ($P < 0.005$).

20-50 m derinlik konturunda ağırlıksal olarak % 84,3'lük bir yüzdeye sahip kemikli balıklar grubunu sırasıyla % 7.91 ile eklem bacaklılar, % 5.2 ile yumuşakçalar % 2.61 ile kıkırdaklı balıklar ve % 0.09 ile derisi dikenliler takip etmektedir (Tablo 3). 50-100 m derinlik konturunda ise % 89.44'lik bir yüzdeye sahip kemikli balıklar grubunu sırasıyla % 6.72 ile yumuşakçalar, % 3.41 ile kıkırdaklı balıklar, % 0.4 ile eklem bacaklılar ve % 0.05 ile derisi dikenliler takip etmektedir (Tablo 4).

Avlanan 6297.01 kg'lık toplam avın içerisinde mezigit balığı kemikli balıklar içerisinde % 44.33 ve tüm gruplar içerisinde % 38.26'lık oranlarla toplam avın en çok katkı yapan tür konumundadır (Şekil 3). Hedef türlerden bir diğeri olan barbunya balığı ise mezigit balığının ardından kemikli balıklar içerisinde % 26.51 ve tüm gruplar içerisinde % 22,88'lik oranlarla en çok avlanan ikinci türdür. Diğer bir ifade ile bu iki balık türü, bölgedeki trol avcılığının en önemli ticari türleridir. Ekonomik olarak önem arz eden *P. saltatrix*, *A. immaculata*, *T. mediterraneus* ve *P. maxima* balıkları ise ağırlıkça tüm gruplar içerisinde sırasıyla % 8.72, % 3.57, % 2.56 ve % 2.19 oranlara sahiptir.

Sayıca ise tüm bireylerin % 44.77'si mezigit, % 35.51'i barbunya, % 5.62'si *L. depurator*, % 3.45'ü istavrit ve % 2.94'i kara midyeden oluşmaktadır (Şekil 4). Kemikli balıklardan mezigit balığının iki derinlik konturunda da oldukça yoğun bulunması bakımından homojen bir dağılışı göstermektedir. Kıkırdaklı balıklar içerisinde *R. clavata* % 66.98 ile en çok av veren kıkırdaklı balık türü olmuştur. Yumuşakçalar grubu içinde kara midye (% 60.48) ve eklem bacaklılar grubu içinde ise *L. depurator* (% 98.82) kendi grupları içerisinde en çok avlanan türlerdir. Derisi dikenliler grubunda ise iki tür neredeyse eşit oranda görülmektedir.

Tüm çekimler birlikte değerlendirildiğinde, *Neogobius melanostomus* türü en sık görülme frekansına (% 86.36), *Engraulis encrasicolus* en az görülme frekansına (% 4.55) sahip iken *M. merlangus euxinus* en baskın tür konumundadır (Şekil 5). Dip trol avcılığında demersal türlerin yanı sıra hamsi, istavrit ve lüfer gibi pelajik türlerde sıklıkla avlanmaktadır. Yedi tür (*M. merlangus euxinus*, *M. barbatus*, *Liocarcinus depurator*, *Pomatomus saltatrix*, *Mytilus galloprovincialis*, *Trachurus mediterraneus* ve *Trachinus draco*) % 1 ve üzeri baskınlığa sahip iken (Şekil 6), 14 tür toplam av içerisinde % 1 ve üzeri orana sahiptir (Şekil 7).

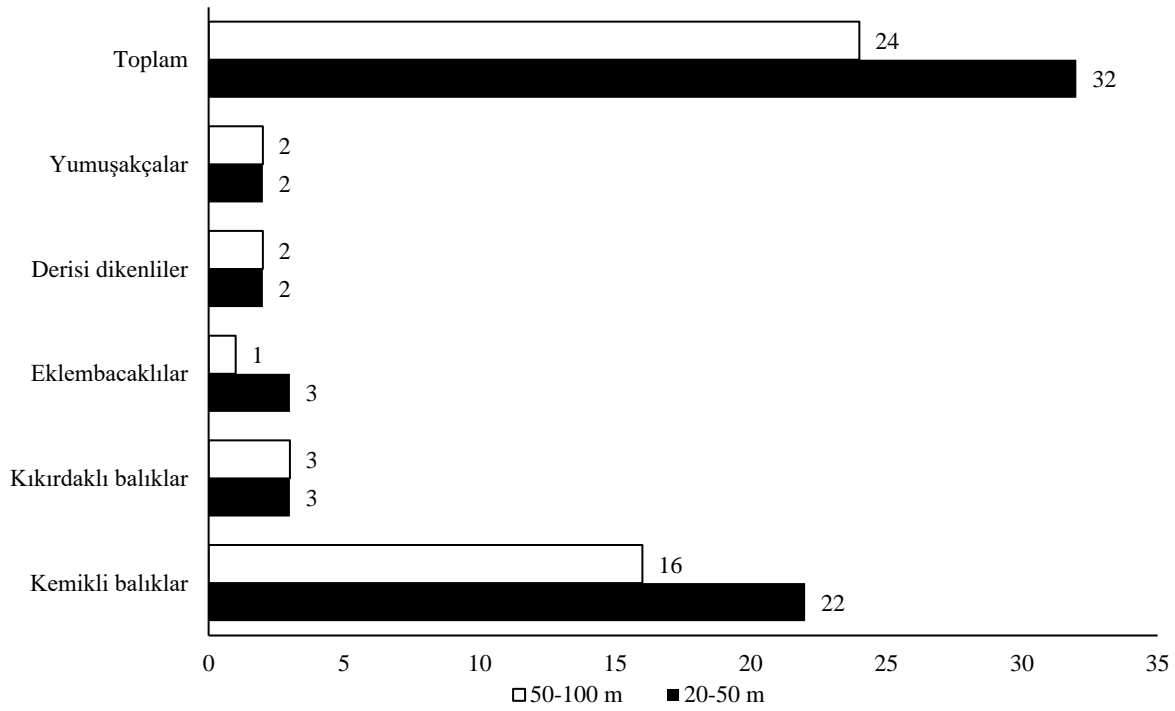
Akdeniz havzasının diğer bölgeleriyle karşılaştırıldığında Karadeniz'in üretkenliği yüksek olarak değerlendirilir. Günümüzde, Karadeniz balıkçılık kaynaklarından elde edilen balık hacmi % 85'den fazladır. Farklı tahminlere göre, balık biyokütlesi 1 milyon ton ile 6 milyon ton arasında iken, resmi kayıtlara göre bu değer 1,5-3 milyon ton arasında değişmektedir (Eremeev ve Zuyev, 2007).

Karadeniz'de dip trol ağlarıyla elde edilen tür sayısı 18 ile 78 arasında değişmektedir (Tablo 5). En yüksek tür sayısı batı Karadeniz'de Karakulak ve diğ. (2015) tarafından 78 tür olarak bildirilmiştir. Tür sayısında görülen bu değişimler, bölgesel farklılıkların yanı sıra çalışmalarda kullanılan yöntem farklılıklarıyla açıklanabilir. Demersal stok tespit çalışmalarında, trol torbasına daha küçük gözlü ağlar yerleştirilerek ağ seçiciliği minimum düzeye indirilebilmektedir. Yüksek tür sayısına genellikle stok çalışmalarında rastlanırken, ticari teknelerle yapılan çalışmalarda elde edilen tür sayısı 18 ile 34 arasında değişmektedir. Bu çalışmada ise 32 tür elde edilmiştir.

Tablo 2. Taksonomik grupların ağırlıksal ve sayısal dağılımı.

Table 2. Distribution of taxonomic groups by weight and number

	Ağırlık (kg)	%	N (adet)	%
Kemikli balıklar	5435.1	86.3	616759	90.9
Kıkırdaklı balıklar	184	2.92	181	0.02
Eklembacaklılar	309.54	4.91	38159	5.6
Derisi dikenliler	4.26	0.06	158	0.02
Yumuşakçalar	364.11	5.78	22929	3.3
TOPLAM	6297.01		678186	



Şekil 2. 20-50 m ve 50-100 m derinlik konturlarında taksonomik gruplara göre avlanan tür sayısı

Figure 2. Number of species according to taxonomic groups in 20-50 m and 50-100 m depth counturs

Tablo 3. 20-50 m derinlik konturunda türlerin frekans (F), baskınlık (D) ve oransal değerleri.

Table 3. Frequency (F), dominancy (D) and relative values of species in 20-50 m depth contour

Türler	N	D %	F %		Toplam Av (kg)	Grup içi %	%
Kemikli balıklar							
<i>M. barbatus</i>	240790	58.52	97.62	D	1441	44.84	38.02
<i>M. m. euxinus</i>	71472	17.37	57.14	D	566.5	17.63	14.95
<i>P. maxima</i>	61	0.01	71.43	D	102.25	3.18	2.7
<i>P. saltatrix</i>	17574	4.27	47.62	Y	549	17.08	14.49
<i>A. immaculata</i>	85	0.02	38.1	Y	10.11	0.31	0.27
<i>T. mediterraneus</i>	18202	4.42	54.76	D	131.05	4.08	3.46
<i>U. scaber</i>	1979	0.48	76.19	D	65.4	2.04	1.73
<i>T. draco</i>	8845	2.15	95.24	D	127.45	3.97	3.36
<i>P. nasuta</i>	449	0.11	40.48	Y	18.17	0.57	0.48
<i>P. flesus</i>	65	0.02	33.33	Y	2.9	0.09	0.08
<i>G. mediterraneus</i>	124	0.03	42.86	Y	3.692	0.11	0.1
<i>G. niger</i>	662	0.16	80.95	D	8.797	0.27	0.23
<i>N. melanostomus</i>	2775	0.67	90.48	D	71.05	2.21	1.87
<i>M. batrachocephalus</i>	1032	0.25	57.14	D	55.68	1.73	1.47
<i>H. guttulatus</i>	427	0.1	57.14	D	1.321	0.04	0.03
<i>S. porcus</i>	2081	0.51	80.95	D	46.55	1.45	1.23
<i>A. kessleri</i>	290	0.07	42.86	Y	2.01	0.06	0.05
<i>S. acus</i>	152	0.04	47.62	Y	2.84	0.09	0.07
<i>E. encrasicolus</i>	3	0	7.14	S	0.03	0.01	0
<i>C. lucerna</i>	15	0	26.19	Y	1	0.03	0.03
<i>P. tentacularis</i>	68	0.02	40.48	Y	0.66	0.02	0.02
<i>S. smaris</i>	45	0.01	30.95	Y	6.01	0.19	0.16
Toplam	367196				3213.47		84.3
Kıkırdaklı balıklar							
<i>R. clavata</i>	120	0.03	73.81	D	81.55	82.21	2.15
<i>S. acanthias</i>	6	0	9.52	S	7.35	7.41	0.19
<i>D. pastinaca</i>	6	0	14.29	S	10.3	10.38	0.27
Toplam	132				99.2		2.61
Yumuşakçalar							
<i>R. venosa</i>	2766	0.67	78.57	D	140.38	71.22	3.7
<i>M. galloprovincialis</i>	4602	1.12	61.9	D	56.73	28.78	1.5
Toplam	7368				197.11		5.2
Eklembacaklılar							
<i>L. depurator</i>	36588	8.89	97.62	D	295.9	98.79	7.81
<i>C. crangon</i>	55	0.01	38.1	Y	0.23	0.08	0.01
<i>E. verrucosa</i>	20	0	28.57	Y	3.4	1.14	0.09
Toplam	36663				299.53		7.91
Derisi dikenliler							
<i>A. rubens</i>	34	0.01	21.43	S	1.36	41.68	0.04
<i>M. glacialis</i>	85	0.02	35.71	Y	1.91	58.32	0.05
Toplam	119				3.27		0.09
GENEL TOPLAM	411478				3812.6		100

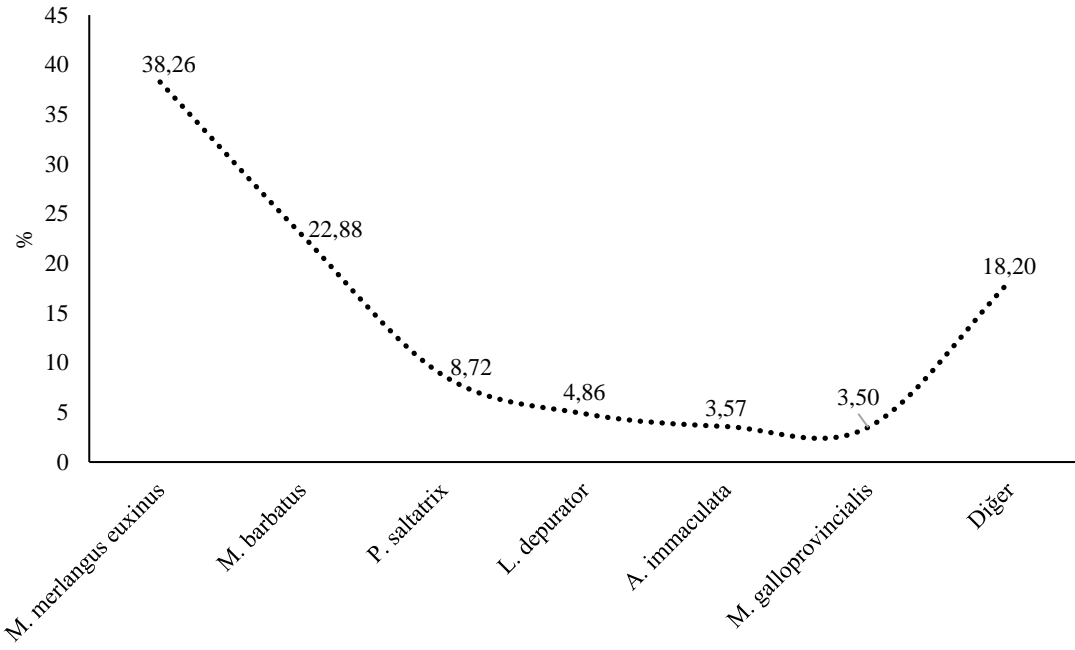
D: Devamlı, Y:Yaygın, S:Seyrek

Table 4. 50-100 m derinlik konturunda türlerin frekans (F), baskınlık (D) ve oransal değerleri.

Table 4. Frequency (F), dominancy (D) and relative values of species in 50-100 m depth contour

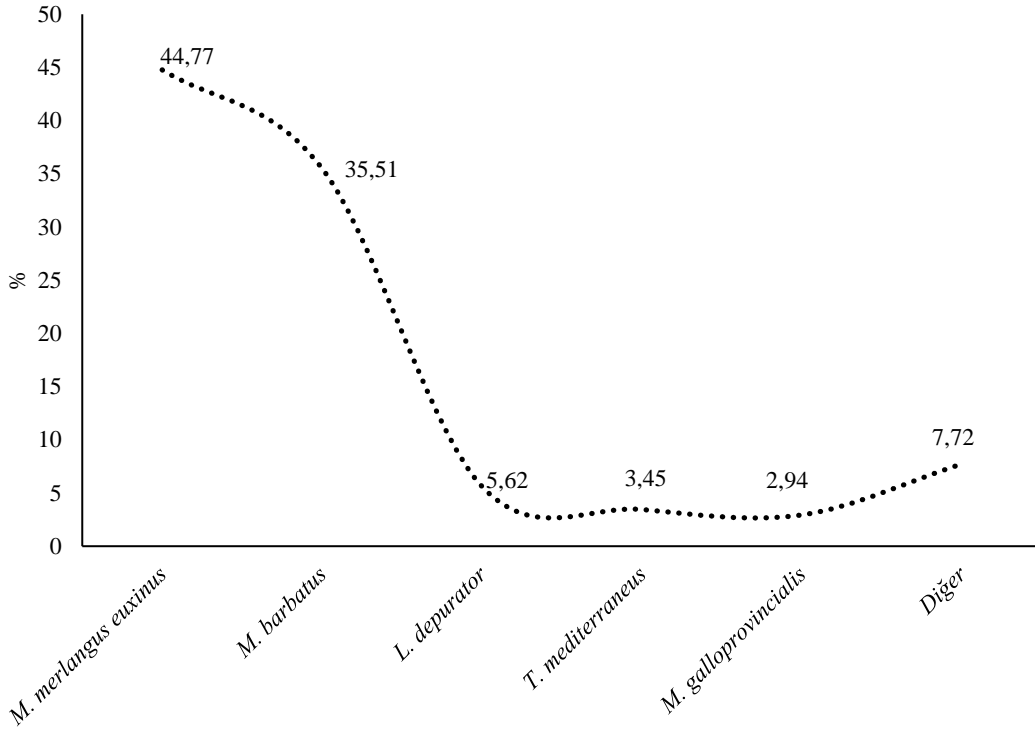
Türler	N	D	F %		Toplam Av (kg)	Grup içi %	%
Kemikli balıklar							
<i>M. m. euxinus</i>	232137	87.04	100	D	1843	82.96	74.19
<i>P. maxima</i>	28	0.01	66.67	D	35.85	1.61	1.44
<i>A. immaculata</i>	4066	1.52	70.83	D	214.98	9.68	8.65
<i>T. mediterraneus</i>	5200	1.95	4.17	S	30	1.35	1.21
<i>U. scaber</i>	82	0.03	12.5	S	6.2	0.28	0.25
<i>T. draco</i>	82	0.03	29.17	Y	13.98	0.63	0.56
<i>P. nasuta</i>	21	0.01	16.67	S	0.15	0.01	0.01
<i>P. flesus</i>	17	0.01	20.83	S	1.6	0.07	0.06
<i>G. mediterraneus</i>	79	0.03	45.83	Y	2.37	0.11	0.1
<i>G. niger</i>	442	0.17	33.33	Y	7.57	0.34	0.3
<i>N. melanostomus</i>	2519	0.94	79.17	D	29.92	1.35	1.2
<i>M. batrachocephalus</i>	790	0.3	25	Y	15.15	0.68	0.61
<i>H. guttulatus</i>	13	0	12.5	S	0.11	0	0.01
<i>S. porcus</i>	5	0	4.17	S	0.65	0.03	0.03
<i>C. lucerna</i>	1	0	4.17	S	0.06	0	0.01
<i>S. sprattus</i>	4081	1.53	37.5	Y	20.02	0.9	0.81
Toplam	249563				2221.61		89.44
Kıkırdaklı balıklar							
<i>R. clavata</i>	36	0.01	50	D	41.7	49.17	1.68
<i>S. acanthias</i>	12	0	37.5	Y	38.35	45.22	1.54
<i>D. pastinaca</i>	1	0	4.17	S	4.75	5.6	0.19
Toplam	49				84.8		3.41
Yumuşakçalar							
<i>R. venosa</i>	235	0.09	8.33	S	3.5	2.1	0.14
<i>M. galloprovincialis</i>	15326	5.75	87.5	D	163.5	97.9	6.58
Toplam	15561				167		6.72
Eklembacaklılar							
<i>L. depurator</i>	1496	0.56	8.33	S	10	100	0.4
Derisi dikenliler							
<i>A. rubens</i>	30	0.01	29.17	Y	0.89	87.75	0.04
<i>M. glacialis</i>	9	0	8.33	S	0.12	12.25	0.01
Toplam	39				1.01		0.05
GENEL TOPLAM	266708				2484.43		100

D: Devamlı, Y:Yaygın, S:Seyrek



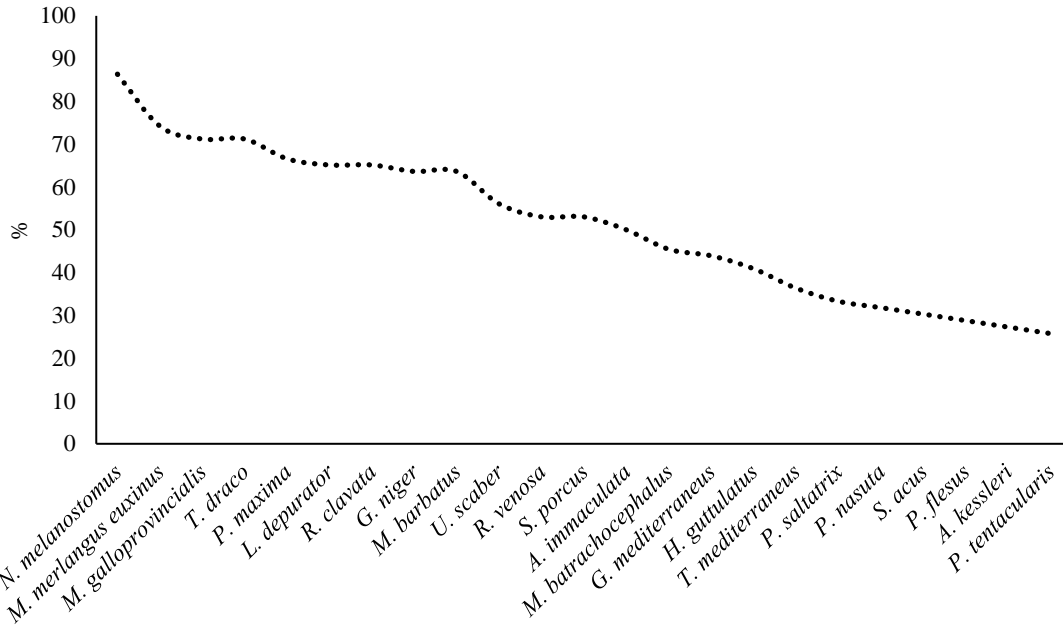
Şekil 3. Toplam av içerisinde türlerin ağırlıksal % dağılımı.

Figure 3. % distribution of species by weight within the total catch



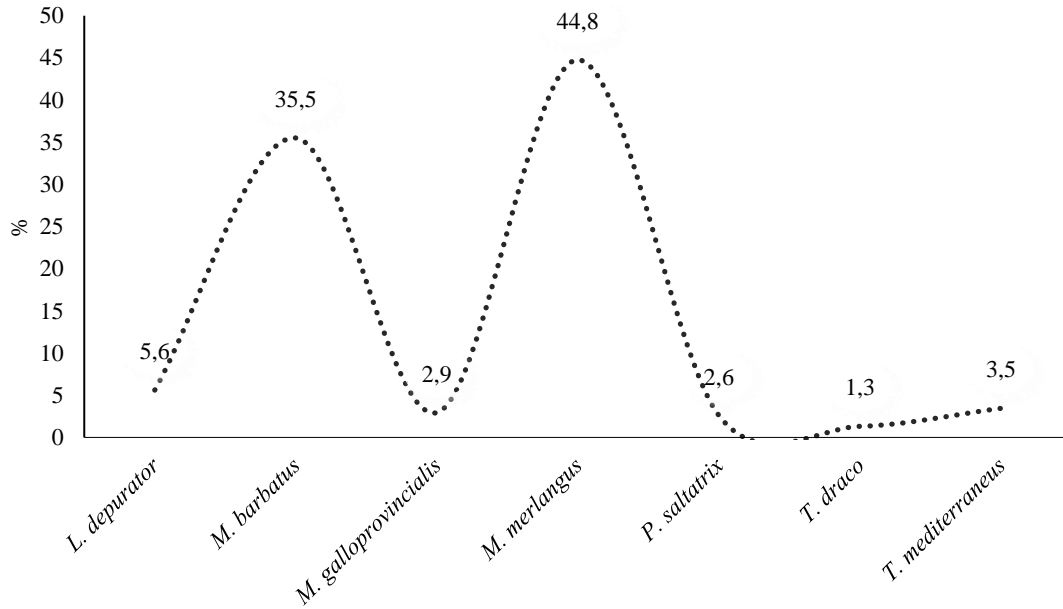
Şekil 4. Toplam av içerisinde türlerin sayısal % dağılımı.

Figure 4. % distribution of species by number within the total catch



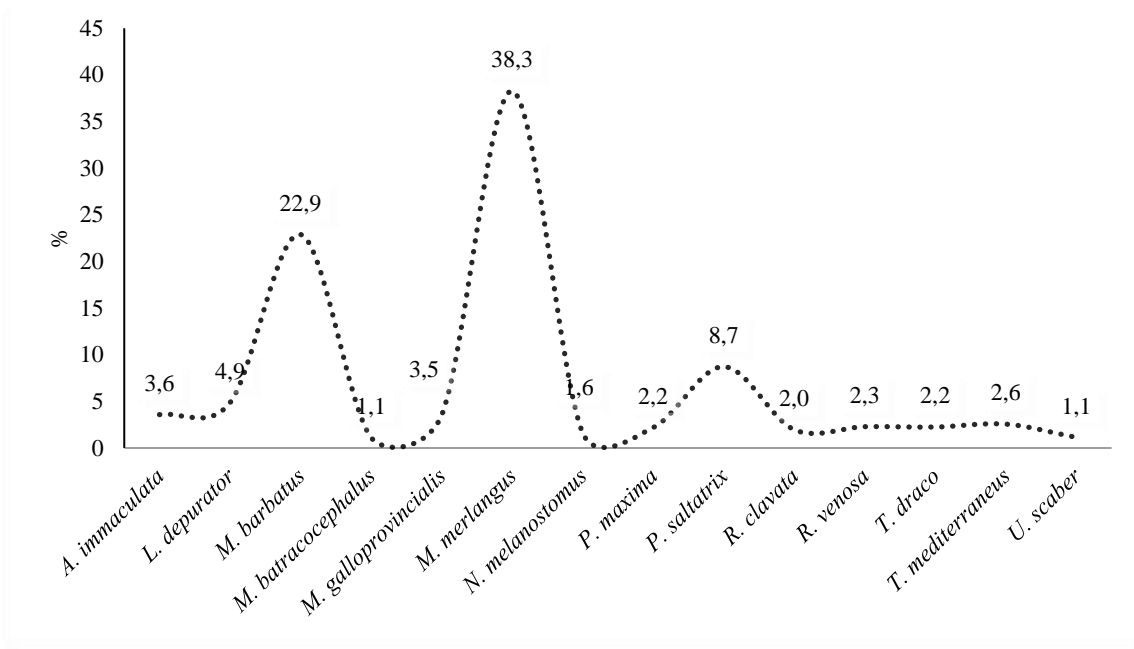
Şekil 5. Toplam av içerisinde sıklık değeri % 25 ve üzerinde olan türler.

Figure 5. Species which have frequency of 25% and more within the total catch.



Şekil 6. Toplam av içerisinde baskınlık değeri % 1 ve üzerinde olan türler.

Figure 6. Species which have dominance of 1% and more within the total catch.



Şekil 7. Toplam av içindeki oransal değeri %1 ve üzerinde olan türler.

Figure 7. Species which have relative value of 1% and more within the total catch.

Tablo 5. Karadeniz’de yapılan farklı çalışmalarda elde edilen tür sayıları.

Table 5. Number of species obtained from different studies in the Black Sea.

	Bölge	Toplam	Kemikli Balık	Kıkırdaklı Balık	Yumuşakça	Derisi dikenli	Kabuklu	Memeli
Ak ve diğ (2011)	Doğu	33	25	3	3		2	
Panayotova ve Raykov (2011)	Batı	26	19	3	2		2	
Başkaya (2012)	Batı	34	25	2	1	2	4	
Aksu (2012)	Batı	18	11	3	1		2	1
Ceylan ve diğ. (2014)	Batı	26	20	2	2		2	
Akpınar (2015)	Orta	65	35	3	12	2	12	
Karakulak ve diğ (2015)	Batı	78	41	3	16	5	11	
Bu çalışma	Batı	32	22	3	2	2	3	

Kemikli balıklar, yapılan tüm çalışmalarda diğer tüm grupların toplamından daha fazla tür sayısı ile temsil edilmektedir. Bu çalışmada da kemikli balıklar 22 tür ile baskın grup olmuştur. Yalnızca Aksu (2012) tarafından Orta Karadeniz’de yapılan bir çalışmada, bir deniz memelisi türünün trol ağlarına girdiği bildirilmiştir. Ayrıca derisi dikenliler grubunun sadece Orta ve Batı Karadeniz’deki çalışmalarda görüldüğü tespit edilmiştir.

Dip trol ağlarıyla avlanan temel grupların toplam av içindeki oranlarına bakıldığında, kemikli balıkların % 27.25 ile % 99.27 arasında değişen oranlara sahip olduğu görülmektedir

(Tablo 5). Kıkırdaklı balıklar grubunun Doğu Karadeniz’deki av verimi diğer bölgelere göre daha fazladır. Bu farklılık, Doğu Karadeniz’de ticari trol avcılığının tamamen yasak olması sebebiyle, kıkırdaklı balık topluluklarının daha az yıpratılmasından kaynaklanmış olabilir. Bingel ve diğ. (1996) tarafından stok tespitine yönelik olarak yürütülen bir çalışmada, yumuşakça grubuna ait türler, trol torbasında daha küçük gözlü bir ağı kullanılması nedeniyle, diğer çalışmalara nazaran daha yüksek oranda elde edilmiştir. Bu çalışmadaki trol av kompozisyonuna ilişkin oranlar, Batı ve Orta Karadeniz’de ticari balıkçılarla yapılan çalışmalara paralellik göstermiştir (Tablo 6).

Dip trol ağlarında elde edilen türlerin toplam av içerisindeki oranları incelendiğinde, genellikle mezigit ve barbunya balığının ilk sıralarda yer aldıkları görülmektedir (Tablo 7). Bazı çalışmalarda (Aksu, 2012; Genç ve diğ., 2002) barbunya balığı oldukça düşük oranlarla (% 1.29 ve % 3.2) temsil edilirken, mezigit balığı % 95.79 gibi yüksek oranlara ulaşabilmektedir. Kutaygil ve Bilecik (1973 ve 1976)'in 1969-1973 yılları arasında Karaburun-Kefken, Kefken-Ereğli, Sinop ve Samsun illerinin dâhil olduğu Orta ve Batı Karadeniz'i içeren çalışmalarında, barbunya oranı sırasıyla % 0.35, % 0.52, % 0.51 ve % 0.94 olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, tüm bölgeler için diğer ekonomik demersal türler içerisindeki barbunya av oranının ise % 0.6 olduğu belirlenmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalardan da anlaşılacağı üzere, genel olarak Orta ve Doğu Karadeniz'deki mezigit balığı oranının barbunyadan daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu çalışmada da, diğer araştırmaların sonuçlarına benzer şekilde, mezigit balığının barbunyadan daha yüksek bir oranda temsil edildiği saptanmıştır. Bununla birlikte, iki tür arasındaki oran farkı diğer çalışmalardaki kadar yüksek değildir. Doğu Karadeniz'de yapılan birkaç araştırmada, *S. acanthias* türünün toplam av içerisinde oransal açıdan mezgitten sonra ikinci önemli tür olduğu bildirilmektedir (Çiloğlu ve diğ., 2002; Çiloğlu, 2005).

Zengin ve diğ. (2013), mezigit ve barbunya balığının Samsun kıta sahanlığında (Orta Karadeniz) genellikle farklı derinliklerde avlandığını bildirmiştir. Bu hususta balıkçılar tarafından kullanılan "barbun suyu" ve "mezigit suyu" terimleri günlük kullanımda yaygın olarak görülmektedir. Buradaki "barbun suyu" terimi genellikle 50 m'den daha sığ suları, "mezigit suyu" ise 50 m'den daha derin suları ifade etmektedir. Derinlikle ilgili olan bu farklılık, bu çalışmada da açık bir şekilde ortaya çıkmıştır. Benzer bir durum, *M. surmuletus* ve *M. barbatus* türlerinin kıyı sularında avlanması, *Merluccius merluccius*'un ise daha derin sularda avlanması şeklinde Balearik Adaları ve Katalan kıyıları için bildirilmiştir

(Carbonell ve diğ., 2003; Sa'nchez ve diğ., 2004). Blanchard (2001), derinlikle ilgili tercihlerde ortaya çıkan farklılıkların, balık topluluklarının biyo-ekolojik özelliklerinin yanı sıra balıkların dağılım gösterdikleri alanların fiziksel özelliklerindeki değişimlerden kaynaklandığını bildirmektedir. Karadeniz'in Türkiye kıyıları boyunca farklı alt bölgelerdeki kıta sahanlığı genişliğinde görülen değişimin de söz konusu derinlik ayırımında rol oynayabileceği düşünülebilir.

Mezigit balığı neredeyse tüm çalışmalarda avlanan türler içerisinde en çok av veren tür konumundadır. Bu durum mezigit balığını, Karadeniz için son derece önemli bir tür konumuna getirmektedir (Bradova ve Prodanov, 2003). İşmen (2002) Doğu ve Batı Karadeniz'i kapsayan çalışmasında, mezigit biyomasının 50 m'den derindeki sularda yoğun olarak bulunduğunu bildirmiştir. Çiloğlu ve diğ. (2002), Doğu Karadeniz'de 35 m'deki mezigit balığının oransal olarak 60 m ve 80 m'ye göre daha az olduğu ve toplam av içinde en fazla mezigit miktarının 80 m derinlikte olduğu rapor edilmiştir. Göner ve Bilgin (2006) ise Orta Karadeniz'de 75 m'den daha derin sularda mezigit balığının toplam avın % 65.8'ini, 75 m'den daha sığ sularda ise toplam avın % 82.5'ni oluşturduğunu belirtmiştir. Aksu (2012) Sinop bölgesinde derinliğin mezigit için önemli bir parametre olduğunu ve 50 m'den daha derin av sahalarında av miktarının her zaman yüksek olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada, 50 m'den daha derin sularda mezigit balığının baskın olduğunu ve av miktarının % 97.22'sini oluşturduğunu tespit edilmiştir. Bu çalışmada ise, mezigit balığının 50-100 m derinlik konturunda toplam avın büyük bir kısmını (% 74.19), 20-50 m ise % 14.95'ini oluşturduğunu ve bu sonuçların diğer çalışmalardan elde edilen sonuçlarla benzerlik gösterdiği görülmektedir. Knudsen ve diğ. (2010) dominant bentopelajik bir tür olan mezgitten, Karadeniz'de Akdeniz'den daha yoğun bir biyokütleyle sahip olmasının nedeni olarak soğuk orta su tabakasının (termoklin) varlığını göstermiştir.

Tablo 6.Hata! Belgede belirtilen stilde metne rastlanmadı. Karadeniz'de temel grupların av içindeki ağırlıksal oranları (%)

Table 6. Proportions (%) of main groups by weight in the Black Sea

	Bç	Kemikli	Kıkırdaklı	Yumuşak	Derisi c	Kabul	Men
Bingel ve diğ. (1996)	Dc	27.2	50.45	19.69		0.38	
Bingel ve diğ. (1996)	B	37.6	14.37	32.93		1.18	
Panayotova ve Raykov (2011)	B	-----96.75-----		2.41		0.01	
Ak ve diğ (2011)	Dc	59.2	40.12	0.54		0.1	
Aksu (2012)	B	99.1	0.55	0.14		0.02	0.1
Başkaya (2012)	B	99.2	0.57	0.02	0.0	0.11	
Akpınar (2015)	O	92	6	*	*	*	
Bu çalışma	B	86.3	2.92	5.78	0.0	4.91	

*Yumuşakça, Derisi dikenli ve Kabuklu grupların toplamı %2

Tablo 7. Karadeniz’de türlerin toplam av içerisinde % oranları**Table 7.** % proportions of species within the total catch in the Black Sea

Tür	Çiloğlu ve diğ. (2002)	Genç ve diğ. (2002)	Çiloğlu ve diğ. (2002) Rize	Çiloğlu ve diğ. (2002) Trabzon	Panayotova ve Raykov (2011)	Başkaya (2012)	Aksu (2012)	Akpınar (2015)	Bu çalışma
<i>M. m. euxinus</i>	42.95	63.3	40.2	44.7	18	16.8	95.79	51	38.26
<i>M. barbatus</i>	15.14	3.2	19.2	12.5	22	79.1	1.29	20	22.88
<i>P. maxima</i>					1.49	0.2	0.37		2.19
<i>P. saltatrix</i>					14.2	0.23	0.21		8.72
<i>A. immaculata</i>						2	0.6		3.57
<i>S. acanthias</i>	24.21		19	31.6		0.03	0.3		0.73
<i>T. draco</i>	3.25		3.9	2.3		0.05	0.02		2.25
<i>P. nasuta</i>			1	0.5					0.29
<i>R. clavata</i>						0.53	0.2		1.96
<i>R. venosa</i>			2.7	0.8			0.14		2.28
<i>T. mediterraneus</i>					18	0.23	0.07		2.56
<i>P. flesus</i>			2	0.4		0.008			0.07
<i>L. depurator</i>						0.1	0.02		4.86
<i>S. porcus</i>	1.49		2.9	1.3		0.08	0.1		0.75
<i>S. sprattus</i>						0.02	0.58		2.32
<i>M. galloprovincialis</i>						0.02			3.5

Barbunya balığının, Doğu Karadeniz’de en yoğun 20-50 m derinliklerde bulunduğu, 1990-1992 yılları arasında barbunya biyokütlesinin oransal olarak neredeyse tamamına yakınının 0-50 m derinlikte olduğu bildirilmiştir (Genç, 2000). Ak ve diğ. (2011)’e göre, barbunya balığı Trabzon kıyılarında 12 ay boyunca ve yoğun olarak 20-40 m’de avlanmaktadır. Aksu (2012), barbunyanın Sinop bölgesinde en yoğun 0-40 m’de avlandığını bildirmiştir. Aynı çalışmada ayrıca sığ sulara yaklaştıkça mezgit av oranının azaldığı, barbunya balığı için ise bunun tam tersinin geçerli olduğu kaydedilmiştir. Samsun kıta sahanlığında 2012-2013 yıllarında yapılan çalışmada, barbunya stokunun genellikle 30-50 m’nin altındaki derinliklerde lokalize olduğu tespit edilmiştir (STECF, 2014). Ceylan ve diğ. (2014)’nın çalışmasında ise barbunya 10-57 m derinlik aralığında toplam avın % 69.10’nu oluşturmuştur. Karakulak ve diğ. (2015) İğneada’dan Karadeniz Ereğlisi’ne kadar yaptıkları stok tespit çalışmasında barbunyanın 0-20 m için, mezgitin ise 20-50 ve 50-100 m derinlik konturları için belirleyici tür olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada da, barbunya balığı 20-50 m derinlik konturunun baskın türü konumundadır ve Karadeniz’in diğer bölgelerinde yapılan çalışmalarda olduğu gibi bu derinlik konturunda en çok avlanan türdür.

Gönener (2003), Orta Karadeniz bölgesi av sahalarının dip yapısının değişimine bağlı olarak barbunya ve mezgit av miktarının değişiklik gösterdiğini belirtmiştir. Özdemir ve

diğ. (2006) aynı bölgede yaptıkları çalışmada, dip trolü avcılığında tür dağılımının avcılık zamanına göre değişiklik gösterdiğini bildirmişlerdir. Özdemir ve Erdem (2011) ise barbunya balığının dip yapısı çamurlu, midyelik ve kepez yapılarla kaplı olan av sahasında diğer av sahalarına göre yaklaşık 6.5 kat daha fazla, mezgit balığının ise kumlu ve taşlık av sahasında diğer av sahalarından yaklaşık 2 kat daha fazla miktarda avlandığını tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada hedef türler haricinde kalkan, lüfer, istavrit, tirs, köpek balığı ve vatoz gibi türler de ticari değerleri olduğu için yan av olarak karaya çıkarılmıştır. Batı Karadeniz ve Sinop bölgesinde ise, lüfer, tirs, istavrit ve kalkan balığının karaya çıkarıldığı bildirilmiştir (Aksu, 2012; Ceylan ve diğ., 2014). Ak ve Genç (2013) ise Karadeniz’de dip trol ağlarının mezgit, barbunya, kalkan, kaya balığı, köpek balığı ve vatozları avlamak için kullanıldığını ifade etmiştir. Bununla birlikte, Orta Karadeniz’de kaya balığının da zaman zaman değerlendirilen bir yan av olduğu belirtilmektedir (Özdemir, 2006). Ayrıca, Orta Karadeniz’de vatoz ve köpek balığı türlerinin belli dönemlerde ekonomik bir değere sahip olsalar bile genellikle ıskarta tür olarak işlem gördükleri tespit edilmiştir (Özdemir, 2006). Knudsen ve diğ. (2010) ise *R. clavata* türünün Türkiye’de pazarlanmadığını ve dolayısıyla büyük bir bölümünün ıskarta edildiğini, buna karşın söz konusu türün karaya çıkarılan av istatistiklerinde yer aldığını bildirmiştir. Ancak, İstanbul’da oldukça büyük bir su ürünleri halinin bulunuşu nedeniyle bazı türlere olan

talep diğer illerden farklı olmaktadır. *R. clavata* türü ekonomik bir tür olup bölgede ihracat ürünü olarak kullanılmaktadır. İstanbul balık hali yalnızca İstanbul değil yakın civardaki çevre illerden gelen arza da cevap vermektedir. Bu sebeple diğer illerde iskarta edilen köpek balığı ve vatoz gibi türler de İstanbul balıkçısı tarafından karaya çıkarılabilmektedir.

Sonuç

Tür kompozisyonu, karaya çıkarılan avın zamana bağlı miktarı ve av gücündeki değişimler gibi temel veriler olmaksızın bir balıkçılıktaki değişimleri izlemek mümkün değildir (Pauly, 1995). Bu nedenle uzun vadeli izleme çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışmanın sonuçları balıkçılık yönetimi ve balıkçılık kaynaklarının korunması için oluşturulacak yönetim planlarının bir parçası olarak kullanılabilir. Tüm sonuçlar dikkate alındığında, Batı Karadeniz’de dip trol balıkçılığı için hedef türlere yönelik avcılığın sağlanmasında derinlik parametresinin oldukça önem arz etmektedir. Tür seçiciliğinin sağlanmasında büyük sorun yaşanan dip trol avcılığında kısmen de olsa derinlik parametrelerine bağlı olarak çeşitli teknik önlemler alınması gerekmektedir.

Kaynaklar

Ak, O., Kutlu, S., Aydın, İ. (2011). Trabzon Kıyılarında Demersal Tür Dağılımı ve Ekonomik Balıkların Yoğunluk Miktarı. *Journal of Fisheries Sciences*, 5(2), 99-106.

AK, O., Genç, Y. (2013). The Black Sea Fishery. In the State of the Turkish Fisheries. (Ed: Adnan Tokaç, Ali Cemal Gücü, Bayram Öztürk). Turkish Marine Research Foundation, Yayın no: 35, 526 sayfa, ISBN 978-975-8825-26-4.

Akpınar, İ.Ö. (2015). Güneydoğu Karadeniz’de trol avcılığına açık ve kapalı alanlarda avlanan av kompozisyonunun karşılaştırılması, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Aksu, H. (2012). Sinop Bölgesinde Dip Trolü Avcılığının Derinlik ve Bazı Meteorolojik Kriterlere Göre Av Verimi ve Kompozisyonunun Araştırılması, Doktora Tezi, Sinop Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Anonim (2016). 4/1 Numaralı Ticari Amaçlı Su Ürünleri Avcılığının Düzenlemesi Hakkında Tebliğ. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Balıkçılık ve Su Ürünleri Genel Müdürlüğü, R.G. Sayı: 29783, No: 2016/35, Ankara.

Avşar, D. (2005). *Balıkçılık Biyolojisi ve Popülasyon Dinamiği*, Nobel Kitapevi. Adana. ISBN 978-605-9354-26-4.

Başkaya, A. (2012). Batı Karadeniz’de Dip Trol Ağlarının Av Kompozisyonu ve Hedef Dışı Avın Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Bingel, F., Bekiroğlu, Y., Gücü, A.C., Niermann, U., Kıdeyş, A.E., Mutlu, E., Doğan, M., Kayıkcı, Y., Avşar, D., Genç, Y., Okur, H., Zengin, M. (1996). Karadeniz Stok Tespiti Projesi, Balıkçılık Araştırmaları, DEBÇAG 74/G, DEBÇAG 139/G ve DEBAG 115/G Final Raporu, Deniz Bilimleri Enstitüsü, Erdemli, İçel ve Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü, Yomra, Trabzon, 172 sayfa.

Blanchard, F. (2001). The effect of fishing on demersal fish community dynamics: an hypothesis. *The International Council for the Exploration of the Sea Journal of Marine Science*, 58: 711-718.

Botsford, L.W., Castilla, J.C., Peterson, C.H. (1997). The management of fisheries and marine ecosystems. *Science*, 277, 509-515.

Bradova, N., Prodanov, K. (2003). Growth rate of the whiting (*Merlangius merlangus euxinus*) from the western part of Black Sea, *Proceedings Institute of Oceanology*, 4, 157-164.

Carbonell, A., Alemany, F., Merella, P., Quetglas, A., Roma’n, E., (2003). The by-catch of sharks in the western Mediterranean (Balearic Islands) trawl fishery. *Fisheries Research*, 61, 7-18.

Ceylan, Y., Şahin, C., Kalayci, F. (2014). Bottom trawl fishery discards on the Black Sea coast of Turkey. *Mediterranean Marine Science*, 15, 156-164.

Çiloğlu, E., Şahin, C., Gözler, A.M., Verep, B. (2002). Mezgit Balığının (*Merlangius merlangus euxinus* Nordmann, 1840) Doğu Karadeniz Sahillerinde Vertikal Dağılımı ve Toplam Av İçindeki Oranı. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(3-4), 303-309.

Çiloğlu, E. (2005). Trabzon-Rize Sahillerinde Pisi Balığının (*Platichthys flesus luscus* Pallas, 1811) Çeşitli Av Kompozisyonları İçindeki Oranı ve Birim Alandaki

- Yoğunluğu. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 22(1-2), 35-38.
- Erkoyuncu, İ. (1995). *Balıkçılık Biyolojisi ve Populasyon Dinamiği*, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sinop Su Ürünleri Fakültesi, Yayın No 95, ISBN 975-7636-29-0.
- Eremeev, V.N., Zuyev, G.V. (2007). Commercial fishery impact on the modern Black sea: a review. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7, 75-82.
- EU. (2010). Fisheries In The Black Sea. Directorate General For Internal Policies Policy Department B: Structural And Cohesion Policies Fisheries. IP/B/PECH/NT/2010-05.
- Genç, Y. (2000). Türkiye'nin doğu Karadeniz kıyılarındaki barbunya (*Mullus barbatus ponticus*, Ess. 1927) balığının biyo-ekolojik özellikleri ve populasyon parametreleri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Genç, Y., Mutlu, C. Zengin, M., Aydın, İ., Zengin, B., Tabak, İ. (2002). Doğu Karadeniz'deki Av Gücünün Demersal Balık Stokları Üzerine Etkisinin Tespiti Sonuç Raporu, TAGEM/IY/97 /17/03/006, Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Trabzon, 122 sayfa.
- Gönener, S., Bilgin, S. (2006). Karadeniz'de (Sinop-Yakakent Bölgesi) Ticari Dip Trolü ile Avlanabilir Balık Biyokütle ve Yoğunluk Dağılımları. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3, 305-312.
- Gönener, S. (2003). Orta Karadeniz'de Dip Trolünün Av Verimi ve Etkileyen Faktörler, Doktora Tezi, Ondokuzmayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- İşmen, A. (2002). A preliminary study on the population dynamics parameters of whiting (*Merlangius merlangus euxinus*) in Turkish Black Sea coast waters, *Turkish Journal of Zoology*, 26, 157-166.
- Jennings, S., Kaiser, M.J. (1998). The effects of fishing on marine ecosystems. *Advances in Marine Biology*, 34, 201-352.
- Karakulak F.S., Zengin, M., Yıldıız, T., Uzer, U., Peksu, M., İlkay, A. (2015). Demersal assemblages on the continental shelf of the western Black Sea, Turkey, *5th Aquatic Biodiversity International Conference*, Sibiu, Romania, 61pp.
- Knudsen, S., Zengin, M., Koçak, M.H. (2010). Identifying drivers for fishing pressure. A multidisciplinary study of trawl and sea snail fisheries in Samsun, Black Sea coast of Turkey. *Ocean & Coastal Management*, 53(5-6), 252-269.
- Kutaygil, N., Bilecik, N. (1973). Karadeniz Kıta Sahaneliği Trol Araştırmaları, E.B.K. Balıkçılık Müessesesi Müdürlüğü Araştırma Raporu.
- Kutaygil, N., Bilecik, N. (1976). Observations Sur Les Principaux Produits Demersaux Qui Sont Les Cotes Turques de la Mer Noir. *Commission Internationale Pour L'exploration Scientifique De La Mer Mediterranee*, 23, 8-12.
- Law, R. (2000). Fishing, selection, and phenotypic evolution. *ICES Journal of Marine Science*, 57, 659-669.
- Özdemir, S. (2006). The effect of position and mesh size of square mesh panel applied in bottom trawl on catchability of different species. Doktora Tezi, Sinop Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Özdemir, S., Erdem, Y., Sümer, Ç., (2006). Kalkan (*Psetta maxima*, Linnaeus, 1758) ve mezzit (*Merlangius merlangus euxinus*, Nordman 1840) balıklarının yaş ve boy kompozisyonundan hesaplanan bazı populasyon parametrelerinin karşılaştırılması. *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(1), 71-75.
- Özdemir, S., Erdem, E. (2011). Karadeniz'in Farklı Av Sahalarında Demersal Trol ile Avlanan Mezzit (*Merlangius merlangus euxinus*, N.) ve Barbunya (*Mullus barbatus ponticus*, E.) Balıklarının Av Miktarları ve Boy Kompozisyonlarının Karşılaştırılması. *Journal of Fisheries Sciences.com*, 5(3), 196-204.
- Panayotova, M., Raykov, V. (2011). International Bottom Trawl Survey in the Black Sea (Bulgarian area), Bulgarian Academy Of Sciences Institute Of Oceanology Varna, Bulgaria, Project Final Report, 38 pages.
- Pauly, D. (1995). Anecdotes and the shifting baseline syndrome of fisheries. *Trends in Ecology & Evolution*, 10(10), 430.

- Pauly, D., Christensen, V., Gu nette, S., Pitcher, T.J., Sumaila, U.R., Walters, C.J., Watson, R., Zeller, D. (2002). Towards sustainability in world fisheries. *Nature*, 418, 689-695.
- Pikitch, E.K., Santora, C., Babcock, E.A., Bakun, A., Bonfil, R., Conover, D.O., Dayton, P., Doukakis, P., Fluharty, D., Heneman, B., Houde, E.D., Link, J., Livingston, P.A., Mangel, M., McAllister, M.K., Pope, J., Sainsbury, K.J. (2004). Ecosystem-Based Fishery Management. *Science*, 305, 346-347.
- Raykov, V., Velikova, V., Lisichkov, K., Kuvendziev, S. (2011). Review of Main Fisheries indicators in the Black Sea by using diagnostic analysis. *Natura Montenegrina*, 10(3), 309-321.
- Rochet M.J., Trenkel, V.M. (2003). Which community indicators can measure the impact of fishing? A review and proposals. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60, 86-99.
- Sa nchez, P., Demestre, M., Martin, P. (2004). Characterisation of the discards generated by bottom trawling in the Northwestern Mediterranean. *Fisheries Research*, 67(1), 71-80.
- Shlyakhov V.A., Daskalov G.M. (2009). The state of marine living resources. Implementation of the Strategic Action Plan for the Rehabilitation and Protection of the Black Sea (2002-2007), Publications of the Commission on the Protection of the Black Sea Against Pollution (BSC) 2009-1, Istanbul, Turkey, 321-364.
- STECF (2014). Black Sea Assessments (Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries STECF-14-14). 2014, Publications Office of the European Union, Luxembourg, EUR 26896 EN, JRC 92436, 421 pages.
- STECF (2015). Black Sea assessments (Scientific, Technical and Economic Committee for Fisheries STECF-15-16) Publications Office of the European Union, Luxembourg, EUR 27517 EN, JRC 98095, 284 pages.
- T  İK (2017). T  İK Su  r nleri İstatistikleri-2016. http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1005 (27.10.2017).
- Zengin, M., Gümüş, A., Süer, S., Dađtekin, M.,  zcan, A.İ., Dalgıç, G., Van, A., Zengin, M., Zengin, B. (2013). Karadeniz'deki Trol Balıkçılığını İzleme Projesi (KARTRİP), Final Raporu, Proje No: TAGEM/HAYS D/2010/09/01/04.TAGEM 2013 Program Deđerlendirme Toplantısı, 04-08 Mart, 2013, Antalya.

METİL PARATION'UN İNCİ KEFALİ (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) ÜZERİNDEKİ AKUT VE KRONİK TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Ertuğrul Kankaya¹ , Güler Ünal² 

Cite this article as:

Kankaya, E., Ünal, G. (2018). Metil Paration'un İnci Kefali (*Chalcalburnus tarichi* Pallas, 1811) Üzerindeki Akut ve Kronik Toksik Etkilerinin Belirlenmesi. Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research, 4(1), 35-45. DOI: 10.3153/JAEFR18004

¹ Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Van, Türkiye

² Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Aydın, Türkiye

Submitted: 24.07.2017

Accepted: 25.12.2017

Published online: 27.12.2017

Correspondence:

Ertuğrul KANKAYA

E-mail: ekankaya@yahoo.com

Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

4(1): 35-45 (2018)

DOI: 10.3153/JAEFR18004

ScientificWebJournals (SWJ)
©2015-2018

ÖZ

Metil paration (MP) organik fosforlu tarımsal bir insektisit olarak geniş bir alanda kullanılır. Bu çalışma, MP'nin inci kefali (*Chalcalburnus tarichi*) üzerine akut ve kronik toksik etkilerini belirlemek için yapılmıştır. Ağırlıkları 3–7 g, boyları 8–10 cm olan balıklar akut testte statik, kronik testte yarı statik test yöntemi kullanılarak, MP'ye maruz bırakılmıştır. Akut testte, 6.45–15.00 mg/L arasında 9 farklı MP; kronik testte 1.47, 2.10, 3.00, 4.28, 6.11 mg/L MP konsantrasyonları uygulanmıştır. Akut testin sonunda, 96 saat LC₅₀ değeri 11.44 mg/L, ve LT₅₀ değeri 28.14–289.29 saat arasında belirlenmiştir. Kronik test 17.9 °C'de, 30 gün devam ettirilmiştir. Testin bitiminde balıklar disekte edilmiş, hematolojik incelemeler için kan, biyokimyasal incelemeler için beyin, karaciğer ve kas dokusu alınmıştır. Beyin dokusunda asetilkolinesteraz aktivitesinin azaldığı (P<0.05) görülmüştür. Hemoglobun ve hematokrit değerlerinin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L MP konsantrasyonlarında azaldığı (P<0.05) tespit edilmiştir. Hemoglobun ve hematokrit değerleri esas alınarak etkisi gözlenen en düşük konsantrasyon 2.10 mg/L, etkisi gözlenmeyen konsantrasyon 1.47 mg/L olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak MP inci kefali için bazı biyokimyasal ve hematolojik kriterlere göre akut ve kronik toksik bir maddedir. Türün yaşadığı tatlısu ortamlarında MP konsantrasyonu 0.1144 mg/L'yi geçmemelidir. MP tarımda kontrollü olarak kullanılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: Metil paration, *Chalcalburnus tarichi*, Akut toksisite, Kronik toksisite, AChE, Hematoloji

ABSTRACT

DETERMINATION OF ACUTE AND CHRONIC TOXIC EFFECTS OF METHYL PARATHION ON *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811)

Methyl parathion (MP) is widely used as an agricultural insecticide with organic phosphorus. This study was conducted to determine acute and chronic toxic effects on *Chalcalburnus tarichi* of MP. Fish 8–10 cm in length were exposed to MP using the static test in the acute test and the semi-static test in the chronic test. In the chronic test, 1.47, 2.10, 3.00, 4.28, 6.11 mg L⁻¹ MP concentrations were applied. The 96 hour LC₅₀ value was determined to be 11.44 mg L⁻¹. The chronic test was continued at 17.9 °C for 30 days. The fish were dissected, blood, brain, liver and muscle tissues were removed. The activity of acetylcholinesterase in brain tissue decreased. Hemoglobin and hematocrit values were decreased at 2.10, 4.28 and 6.11 mg L⁻¹ concentrations. Based on hemoglobin and hematocrit values, the lowest observed effect concentration was 2.10 mg L⁻¹ and the no observed effect concentration was 1.47 mg L⁻¹. In conclusion, MP is an acute and chronic toxic substance for *C. tarichi* according to some biochemical and hematological criteria. In freshwater environments where *C. tarichi* lives, the MP concentration should not exceed 0.1144 mg L⁻¹. MP should be used as a control in agriculture.

Keywords: Methyl parathion, *Chalcalburnus tarichi*, Acute toxicity, Chronic toxicity, AChE, Hematology

Giriş

Organik fosforlu (OP) pestisitlerin formulasyonu, uygulama metodu, iklim ve bitkinin büyüme safhasına bağlı olarak hızlı bir şekilde parçalandığı bilinir. Bu sebeple günümüzde dünyanın pek çok yerinde tarımsal amaçlar ve ev zararlıları için kullanılmaktadır (Singh ve Walker, 2006). Tarım alanları ve yerleşim bölgelerinde yaşayan zararlı organizmalara karşı yapılan pestisit uygulamaları sonucu oluşan kontaminasyonlar farklı yollarla su kaynaklarına ulaşır (Milam ve ark., 2004). Sucul ortamların pestisitler tarafından kontaminasyonu balık gibi hedef dışı organizmaları etkileyebilir (Monteiro ve ark., 2006; Murthy ve ark., 2013; Lakshmaiah, 2016). Metil paration (MP) OP'li pestisit olup tarımsal bir insektisit olarak geniş bir alanda kullanılmaktadır. MP, öncelikli olarak pamuk biti ve diğer tarımsal ürünlerdeki pek çok zararlı böceği kontrol etmede kullanılır (Edwards ve Tchounwou, 2005).

OP'li pestisitlerin balıklar tarafından alınmasında canlının biyokimyasal kompozisyonu etkilenir (Lakshmaiah, 2016). MP ve OP'li bileşiklerin birincil etkisi hem omurgasız hem de omurgalı organizmalarda asetilkolinesteraz (AChE) enziminin engellenmesidir (Monteiro ve ark., 2006; Lakshmaiah, 2016). MP, maruz kalan organizmaların sinir sistemi üzerinde şiddetli bir etkiye sahiptir. Bu etki geriye dönüşümsüz olarak AChE'yi güçlü bir şekilde inhibe etmesiyle karakteristiktir (Edwards ve Tchounwou, 2005). MP'nin, farklı familyalara ait balıklar üzerindeki toksisitesi (Murthy ve ark., 1984); balık dokularındaki AChE aktivite ve içeriği (Sivaperumal ve Sankar, 2011; Salles ve ark., 2015); *Callichthys callichthys* balığı plazma kolinesteraz aktivitesi ve davranış üzerine etkileri (Silva ve ark., 1993); tatlısu organizmalarında biyolojik birikimi (De La Vega Salazar ve ark., 1997); *Oncorhynchus mykiss* balığı farklı dokularında oksidatif stres biyomarkırları (Isik ve Celik, 2008); *Catla catla* balığı hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin değişimi (Abhijith ve ark., 2012) çalışılmıştır. Hematolojik parametreler, kirleticiler ve hastalıklar gibi maruziyetlerde oluşan farklı stres koşullarını takiben meydana gelen fizyolojik değişimleri belirlemede balık türlerinde balığın sağlık durum indeksi olarak kullanılır (Alwan, 2013).

Balık, nispeten büyük vücudu, uzun ömrü ve kolay erişim gibi spesifik biyolojik karakterleri nedeniyle çevre izleme programlarında kirliliğin güçlü biyoindikatörü olarak düşünülür (Chupani ve ark., 2016). *Cyprinidae* familyasından olan *Chalcalburnus tarichi* Van Gölü havzası ve çevresindeki yerleşim yerlerinde taze ve tuzlanmış olarak tüketilmektedir (Duyar, 2000). *C. tarichi* Van Gölü havzası sularında yaşayan endemik bir türdür. *C. tarichi* Mayıs-Haziran aylarında göle dökülen akarsulara üremek üzere girer ve yu-

murtasını bıraktıktan sonra geri döner. Yumurtaların döllenmesi, kuluçka dönemi, yavruların çıkışı ile bunların belirli bir süre beslenmeleri bu akarsularda gerçekleşir (Elp, 1996). *C. tarichi* yaklaşık 9700 ton/yıl avcılığı ile bölgede ekonomik olarak önemli bir yere sahiptir (Anonim, 2017a).

MP, Türkiye genelinde oldukça fazla kullanılmaktadır (Kalipci ve ark., 2010). Van bölgesindeki meyve, sebze ve yem bitkileri tarımında yaygın kullanımından dolayı da *C. tarichi* bu maddenin toksisite tehlikesi ile karşı karşıyadır (Kankaya ve Kaptaner, 2014). Yapılan araştırmalarda bu güne kadar *C. tarichi* üzerinde MP'nin akut toksisitesi, AChE inhibisyonu ve hematolojisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bununla birlikte, MP'nin sublethal konsantrasyonlarına maruz kalan *C. tarichi* eritrositlerinde mikronüklei oluşumu (Kankaya ve ark., 2012) ve balığın karaciğerinde apoptosiz artışı (Kankaya ve Kaptaner, 2014) çalışılmıştır. Ayrıca, OP'li pestisitlerden malathionun *C. tarichi* üzerindeki akut toksisitesi (Sürücü, 2005) incelenmiştir.

Bu çalışma, su ekosistemlerine tarımsal faaliyetler sonucu karışan, Van Gölü havzasında yaygın olarak kullanılan MP'nin *C. tarichi* üzerindeki akut toksisitesi, AChE inhibisyonu ve hematolojik değişimleri belirlemek amacıyla yapılmıştır.

Materyal ve Metot

Biyodenedeyde, çatal boyu 8–10 cm, ağırlığı 3–7 g olan balıklar kullanılmıştır. Balıklar, doğal ortamdan, Van Gölü'ne dökülen Karasu çayından (43°17'D, 38°39'K) elektroşok ile yakalanarak oksijen destekli kaplarla laboratuvara getirilmiştir. Balıklar, su akışı ve havalandırmanın olduğu, kloru giderilmiş çeşme suyu içeren fiberglas tanklara uygun yoğunlukta stoklanmıştır. Balıklar, ticari alabalık pelet yemi ile beslenmiştir. Ortama alışmaları için yaklaşık 1.5 ay beklenmiştir.

Biyodenedeyde 60x30x40 cm ebatlarındaki cam akvaryumlar kullanılmıştır. Stok tankından alınan balıklar her bir akvaryuma rastgele seçilerek 10 adet konulmuştur. Akvaryumların etrafı balıkların stresini önlemek için kağıtla kapatılmıştır. Çalışmada kloru giderilmiş çeşme suyu kullanılmıştır. Biyodenedey süresince hava motoruyla akvaryumların suyu havalandırılmıştır. Deneme doğal fotoperiyotta yapılmıştır. MP stok solüsyonu, Türkiye'de tarım ilaçları üreten bir firmadan %80 teknik konsantrasyonda temin edilen MP (C₈H₁₀NO₅PS) kullanılarak hazırlanmıştır. MP dimetil sülfoksit (DMSO) (Sigma) içinde çözünerek hazırlanmıştır. Test balıklarının 7 gün süreyle ortama alışmaları sağlanmıştır. Testler iki tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Akut toksisite testinde uygulanan MP konsantrasyonları Macek ve McAllister, (1970), Nagaratnamma ve Ramamurthi,

(1981)'nin rapor ettiği LC₅₀ değerleri dikkate alınarak gerçekleştirilen tarama testi sonuçlarına göre seçilmiştir. MP konsantrasyonları logaritmik oranda değişecek şekilde; 6.45, 7.17, 7.97, 8.86, 9.84, 10.94, 12.15, 13.50, 15.00 mg/L MP, kontrol ve çözücü kontrol grubu [35 mL DMSO (çözücü olarak kullanılan en yüksek miktar)] olarak uygulanmıştır. Test, statik test yöntemi kullanılarak 96 saat devam ettirilmiştir (Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005). Kronik toksisite testinde uygulanan MP konsantrasyonları, akut toksisite testi sonunda hesaplanan 96 saat LC₅₀ değeri dikkate alınarak; 1.47, 2.10, 3.00, 4.28, 6.11 mg/L MP, kontrol ve çözücü kontrol grubu olarak uygulanmıştır. Test, yarı statik test yöntemi kullanılarak 30 gün devam ettirilmiştir (Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005). Test ortam suyu iki günde bir yenilenmiştir. Test boyunca balıkların beslenme ve bakımları düzenli olarak yapılmıştır. Araştırma boyunca akvaryumların su kalite kriterleri düzenli olarak izlenmiştir (pH: 8.46, çözülmüş oksijen: 6.04 mg/L, sıcaklık: 17.9 °C, toplam sertlik CaCO₃: 344 mg/L, elektriksel iletkenlik: 882 µS/cm, ve toplam alkalinite CaCO₃: 518 mg/L).

Kronik testin sonunda, anestezi edilen balıkların kavdal yüzgeci kesilerek kavdal venadan akan kan heparinli tüplere alınmıştır. Kan örneklerinde hemoglobin miktarı (Kocabatmaz ve Ekingen, 1977; 1984), hematokrit tayini ve eritrosit sayısı (Blaxhall ve Daisley, 1973; Houston, 1990) 24 saat içerisinde çalışılmıştır. Kan örnekleri alındıktan sonra balıklara otopsi yapılarak, AChE ve butirilkolinesteraz (BChE) aktivitesini belirlemek (Ellman ve ark., 1961) için beyin, kas ve karaciğer dokuları çıkartılmış, ağzı kilitli küçük plastik poşetler içerisinde analize kadar - 80 °C'de saklanmıştır (Chuiko ve ark., 2003; Lionetto ve ark., 2003).

Akut toksisite denemesi boyunca balıklarda davranış değişiklikleri kaydedilmiştir. Elde edilen verilere göre medyan lethal konsantrasyon (LC₅₀) ve her bir konsantrasyon için medyan lethal zaman (LT₅₀) parametreleri ve bunların % 95'lik güven sınırları probit analiz metoduyla, SPSS bilgisayar programı kullanılarak hesaplanmıştır (Ünsal, 1998; Çetinkaya, 2005).

Kronik toksisite denemesinde elde edilen verilere göre; etkisi gözlemlenen en düşük konsantrasyon (LOEC), etkisi gözlenmeyen konsantrasyon (NOEC), NOEC ve LOEC'nin geometrik ortalaması alınarak maksimum kabul edilebilir toksikant konsantrasyonu (MATC) parametreleri hesaplanmıştır (USEPA, 1989; USEPA, 1991; Ünsal, 1998; OECD, 2000; Çetinkaya, 2005).

Kronik toksisite deneme sonuçlarından elde edilen biyokimyasal analiz [verilere $\sqrt{x+1}$ transformasyonu yapılmıştır (Düzgüneş ve ark., 1987)] değerlerinin

ortalamaları ve gruplar arasındaki farklılıklar varyans analizi ve Duncan çoklu karşılaştırma yöntemiyle SAS paket bilgisayar programı kullanılarak (SAS, 1998), hematolojik sonuçlar bilgisayar programı ile hesaplanmıştır. Önem seviyesi P<0.05 olarak seçilmiştir.

Bulgular ve Tartışma

Akut toksisite testi boyunca konsantrasyona bağlı olarak davranış değişikliği ve ölüm gözlemlerine göre kontrol ve DMSO kontrol gruplarında herhangi bir anormal yüzme davranışı ve ölüm görülmemiştir. Tüm MP konsantrasyonlarında balıklarda durgunluk, yavaş hareket, akvaryumun bir köşesinde toplanma gözlenirken MP miktarı arttıkça tabanda yan yatma, dengesiz yüzme, düzensiz solunum, suyun yüzeyine ani sıçrama, kendi eksenini etrafında dairesel hareketler, baş aşağı veya yukarı pozisyonda durma görülmüştür. 6.45 ve 7.17 mg/L MP konsantrasyonlarında balık ölümü olmazken MP miktarı artışına paralel olarak değişen sayıda balık ölümleri gerçekleşmiştir. MP'ye maruz bırakılan bireylerde gözlemlenen morfolojik değişimler düzensiz solunum, denge kaybı, hareketlerde yavaşlama, kramp benzeri davranışlar, suyun yüzeyine ani sıçrama hareketi, balıkların baş ve kuyruk kısmının dorsa-ventral veya lateral olarak bir yay gibi kıvrılması, kendi ekseninde dairesel hareketler çeşitli insektisit veya kimyasala maruz bırakılan birçok balık türünde de (Murty ve ark., 1984; Rao ve Rao 1984b; Silva ve ark., 1993; Machado ve Fanta 2003) gözlenmektedir. Bu semptomların MP'nin vücutta AChE aktivitesini engellemesi ve asetil kolin ile sinir uyarımlarının iletilmemesinden kaynaklandığı ifade edilmektedir.

Metil paration akut toksisite testinde belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat LC₅₀ değerleri ile bunlara ait güven sınırları Tablo 1'de verilmiştir. Buna göre, LC₅₀ değerinin 24 saatte 14.55 mg/L (13.41–16.52), 48 saatte 12.92 mg/L (11.98–14.15), 72 saatte 11.63 mg/L (10.80–12.55) ve 96 saatte 11.44 mg/L (10.68–12.27) olduğu belirlenmiştir. MP için diğer bazı balık türlerinde belirlenen LC₅₀ değerleri Tablo 2'de verilmiştir. Tablo 2 incelendiğinde tatlı su balıkları için MP LC₅₀ değerlerinin, dolayısıyla balıkların MP'ye karşı toleranslarının çok geniş bir aralıkta değiştiği görülmektedir. MP'nin farklı balık türlerine ait LC₅₀ değerleri dikkate alınarak yapılan toksisite sınıflandırması ve bu çalışmada elde edilen 96 saat LC₅₀ 11.44 mg/L değeri ele alındığında MP'nin inci kefaline olan toksisitesinin orta derecede olduğu söylenebilir. İnci kefalinin kendisiyle aynı familyaya mensup türlerden *Cyprinus carpio*, *Pimephales promelas* ve *Carassius auratus* ile kıyaslandığında MP için daha yüksek bir LC₅₀ değeri göze çarpmaktadır. Bu sonuç inci kefalinin MP'ye karşı aynı familya üyelerinden daha toleranslı olduğunu göstermektedir. Ancak diğer denemelerin yapıldığı su

kalitesi şartları bilinmemektedir. Bu denemede ise suyun pH değerinin 8.37 olması MP'nin daha çabuk parçalanmasına ve böylece toksik etkisinin daha kısa sürede azalmasına neden olabilir. Nitekim akut denemede asıl ölümler 1–3 gün içinde gerçekleşmiş, bu sürede ölmeyen balıklar sonraki günlerde yaşamaya devam etmişlerdir. Güvenli konsantrasyon LC₅₀ değerinin %1'lik miktarı olarak kabul edildiği için 0.01 değeri ile çarpılarak elde edilmektedir (Anonim, 1995). Buna göre güvenli konsantrasyon 0.1144 mg/L MP bulunmuştur.

MP akut toksisite testinde belirlenen konsantrasyonlara göre LT₅₀ değerleri ve % 95'lik güven sınırları Tablo 3'te verilmiştir. Buna göre, 7.97, 8.86 ve 9.84 mg/L konsantrasyonlarında LT₅₀ değerlerinin 96 saatin üzerinde olduğu hesaplanmıştır. Diğer konsantrasyonlarda LT₅₀ değerlerinin 96 saatten daha az olduğu ve en küçük LT₅₀ değerinin 15.00 mg/L konsantrasyonda 28.14 saat olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça beklenildiği gibi LT₅₀ süreleri de kısalmaktadır. İnci kefalinin birçok balık türüne göre MP toksisitesine daha dayanıklı olduğu görülmektedir. Akut denemede uygulanan 7.97–15.00 mg/L MP konsantrasyonları için LT₅₀ değerinin 28.14–289.29 saat arasında değiştiği belirlenmiştir.

Tablo 1. İnci kefalı, metil paration akut toksisite testinde belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saat LC₅₀ değerleri ile bunlara ait güven sınırları.

Table 1. *C. tarichi* methyl parathion acute toxicity test 24, 48, 72 and 96 h LC₅₀ values and confidence limits.

Saat	LC ₅₀ (mg/L)	LC ₅₀ (mg/L) % 95 Güven sınırları
24	14.55	13.41-16.52
48	12.92	11.98-14.15
72	11.63	10.80-12.55
96	11.44	10.68-12.27

Tablo 2. Çeşitli tatlı su balık türleri için farklı saflıktaki metil parationun 96 saat LC₅₀ değerleri, güven sınırları ve değerlendirmeler (Anonim, 2017b'den kısaltılarak ve bu çalışma)

Table 2. For various freshwater fish species, 96 h LC₅₀ values of different purity of methyl parathion, confidence limits and assessments (Abbreviated from Anonymous 2017b and this study)

Test edilen balık türü	MP'nin saflığı (%)	LC ₅₀ (mg/L)	Güven sınırları	Toksisite
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	90	3.7	3.13-4.38	Orta
<i>Lepomis macrochirus</i>	80	2.4	-	Orta
<i>Pimephales promelas</i>	80	9.5	-	Orta
<i>Carassius auratus</i>	90	9.0	8.1-9.9	Orta
<i>Cyprinus carpio</i>	90	7.13	6.44-7.87	Orta
<i>Ictalurus melas</i>	90	6.64	4.97-8.88	Orta
<i>Gambusia affinis</i>	99	13.48	13.2-13.7	Orta
<i>Chalcalburnus tarichi</i>	80	11.44	10.68-12.27	Orta

Tablo 3. İnci kefalı, metil paration akut toksisite testinde belirlenen konsantrasyonlara göre LT₅₀ değerleri ve güven sınırları.

Table 3. *C. tarichi* methyl paration acute toxicity test LT₅₀ values and confidence limits.

Konsantrasyon (mg/L)	LT ₅₀ (saat)	LT ₅₀ (saat) % 95 Güven sınırları
7.97	289.29	-
8.86	138.55	92.18-3278.41
9.84	168.08	111.25-1101.13
10.94	95.33	80.06-130.26
12.15	53.38	39.33-68.04
13.50	59.44	43.31-77.56
15.00	28.14	10.55-54.50

Kronik denemede, test gruplarında testin başlangıcında, satılık ve devamında günlük olarak morfolojik gözlemler yapılmış ve ölümler kaydedilmiştir. Kronik testte ölümün beklenmediği konsantrasyonlar seçilmesine rağmen, MP'nin 4.28 mg/L konsantrasyonunda 13 ve 16'ncı günde 2 (%10), 6.11 mg/L konsantrasyonunda ise 7 ve 14'üncü günde 4 (%20) balığın öldüğü gözlenmiştir. Deneme boyunca, MP uygulama gruplarında başka ölüm olmamıştır. Zaman zaman gruplardaki bazı balıklarda durgunluk dışında herhangi bir anormal davranış belirlenmemiştir.

30 günün sonunda balıklardan alınan kan örneklerinden ölçülen hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) değerleri, eritrosit (RBC) sayıları, ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonları (MCHC) Tablo 4'de verilmiştir. Buna göre 1.47 ve 3.00 mg/L'deki Hb değerinin kontrole göre azaldığı ve bu azalmanın sadece DMSO kontrolüne göre istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). MP'nin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L konsantrasyonunda Hb değerlerinin kontrollere göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. MP'nin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L konsantrasyonunda ölçülen Hct değerlerinin de kontrollere göre azaldığı ve bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. MP'nin 2.10, 4.28 ve 6.11 mg/L konsantrasyonlarında Hct değerlerinin 3.00 mg/L'ye göre azaldığı ve bu azalmanın da önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Santhakumar ve ark. (1999), *Anabas testudineus* balığını OP'li monocrotophosun subletal konsantrasyonlarına (1.9–9.5 mg/L) 21 gün süreyle maruz bırakmış ve Hb değerinin her iki konsantrasyon için önemli ölçüde düştüğünü ve Hct değerinin azaldığını ancak önemli olmadığını bildirmişlerdir. John (2007), tatlı su balığı *Mystus vittatus*'un OP'li metasytosta kronik maruz bırakılması sonrası Hb yüzdesinin önemli ölçüde azaldığını ve Hct değerinin azalmasına karşın önemli olmadığını bildirmiştir. Farklı balık türleri üzerinde farklı pestisit gruplarının hematolojik etkilerinin belirlenmeye çalışıldığı araştırmalarda da (Kumar ve ark., 1999; Atamanalp ve Cengiz, 2002; Saxena ve Seth, 2002; Atamanalp ve Yanık, 2003) Hb ve Hct değerlerinin düştüğü rapor edilmiştir. Benzer olarak MP'ye maruz kalan inci kefalinde de Hb ve Hct değerlerinde düşüş olduğu gözlenmiştir.

Bu çalışmada, MCH'nin sadece 4.28 mg/L konsantrasyonunda önemli ölçüde azaldığı ($P<0.05$) diğer konsantrasyonlarda değişmediği ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Kumar ve ark. (1999), deltamethrine maruz bırakılan *Heteropneustes fossilis* balığında MCH'nin azalışının önemli olduğunu; Atamanalp ve Yanık (2003), mancozebe maruz bırakılan

gökkuşuğu alabalığında, Svobodova ve ark. (2003), deltamethrine maruz bırakılan sazan balığında MCH'nin azalışının önemsiz olduğunu ve John (2007), OP'li metasytosta maruz bırakılan *Mystus vittatus*'un MCH'nin artışının önemsiz olduğunu bildirmişlerdir.

MP'nin bütün konsantrasyonlarında MCHC değerlerinin kontrollere göre azaldığı, ancak bu azalmanın sadece 6.11 mg/L'de önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Santhakumar ve ark. (1999), OP'li monocrotophosuna maruz bırakılan *Anabas testudineus* balığında uygulanan pestisit artışına bağlı olarak MCHC değerinin azaldığını; Atamanalp ve Yanık (2003), mancozebe maruz bırakılan gökkuşuğu alabalığında MCHC'nin, pestisite maruz bırakma süresine bağlı olarak MCHC'nin başlangıçta (1 ve 2'inci hafta süresince) önemli olarak azaldığı ve 3'üncü haftada önemli bir artışın olduğunu; Svobodova ve ark. (2003), deltamethrine maruz bırakılan sazan balığında MCHC değerinde gruplar arası herhangi farkın olmadığını; John (2007), OP'li metasytosta maruz bırakılan *Mystus vittatus*'un MCHC değerinde artışının önemsiz olduğunu tespit etmişlerdir. Hematolojik parametrelerdeki bu farklılıklar uygulanan kimyasal maddenin özelliklerine, maruz bırakılan balığın türüne, büyüklüğüne, denemede kullanılan suyun kalite kriterlerine ve maruz bırakma süresine bağlı olarak farklılıklar göstermektedir (Santhakumar ve ark., 1999; Kumar ve ark., 1999; Saxena ve Seth, 2002; Katalay ve Parlak, 2002; Svobodova ve ark., 2003; John, 2007).

Kronik denemenin sonunda balıklardan alınan kanda belirlenen hemoglobin ve hematokrit değerlerine göre LOEC değeri 2.10 mg/L, NOEC değeri 1.47 mg/L, MATC değeri 1.76 mg/L olarak belirlenmiştir. İnci kefaline MP'nin kronik toksisite denemesi sonunda alınan kana ait hemoglobin (Şekil 1) ve hematokrit (Şekil 2) LOEC ve NOEC değerleri verilmiştir.

Tablo 4. İnci kefali, metil paration kronik toksisite testi balık kan örneklerinde, hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), eritrosit sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin konsantrasyonları (MCHC), ortalama±standart hata.

Table 4. In the fish blood samples, *C. tarichi*, methyl paration chronic toxicity test showed that hemoglobin (Hb), hematocrit (Hct), red blood cell (RBC), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), mean±standard error

Konsantrasyon (mg/L)	Hb (g/100 mL)	Hct (%)	RBC (10 ⁶ mm ³)	MCV (µm ³)	MCH (µg/hücre)	MCHC (g/100 mL)
0.00	8.86±0.35 ^{ab}	37.11±0.86 ^a	2.34±0.05 ^a	160.24±4.82 ^a	38.17±1.58 ^{ab}	23.90±0.84 ^{ab}
952.04 (DMSO)	9.48±0.31 ^a	38.04±1.08 ^a	2.34±0.08 ^a	165.00±6.20 ^a	41.21±1.77 ^a	25.03±0.61 ^a
1.47	8.28±0.20 ^{bc}	35.76±1.20 ^{ab}	2.32±0.14 ^a	162.24±8.82 ^a	38.26±2.28 ^{ab}	23.54±0.91 ^{ab}
2.10	7.42±0.23 ^{dc}	32.10±1.15 ^b	2.68±0.27 ^a	154.64±21.79 ^a	34.26±6.16 ^{ab}	22.53±0.92 ^{abc}
3.00	8.07±0.51 ^{bc}	37.69±1.29 ^a	-	-	-	23.00±1.04 ^{abc}
4.28	6.82±0.31 ^d	33.16±1.85 ^b	2.44±0.10 ^a	140.36±6.31 ^a	29.58±1.33 ^b	21.38±0.73 ^{bc}
6.11	6.71±0.25 ^d	32.79±1.67 ^b	2.47±0.32 ^a	178.65±24.34 ^a	34.06±5.42 ^{ab}	20.55±1.29 ^c
Genel ortalama	8.11±0.15	35.36±0.52	2.42±0.07	160.70±5.22	36.74±1.24	23.07±0.36

a, b, c, d Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, metil paration konsantrasyonuna bağlı olarak gruplar arası ortalama değerlerin farklılıklarını ifade etmektedir, aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.05), (-) 3.00 mg/L MP konsantrasyonundaki balıklarda eritrosit sayımı yapılamamış, ortalama eritrosit hacmi ve eritrosit başına düşen ortalama hemoglobin miktarı hesaplanamamıştır.

Tablo 5. Kronik testte balıklardan alınan kas, beyin ve karaciğer dokularında asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) aktiviteleri.

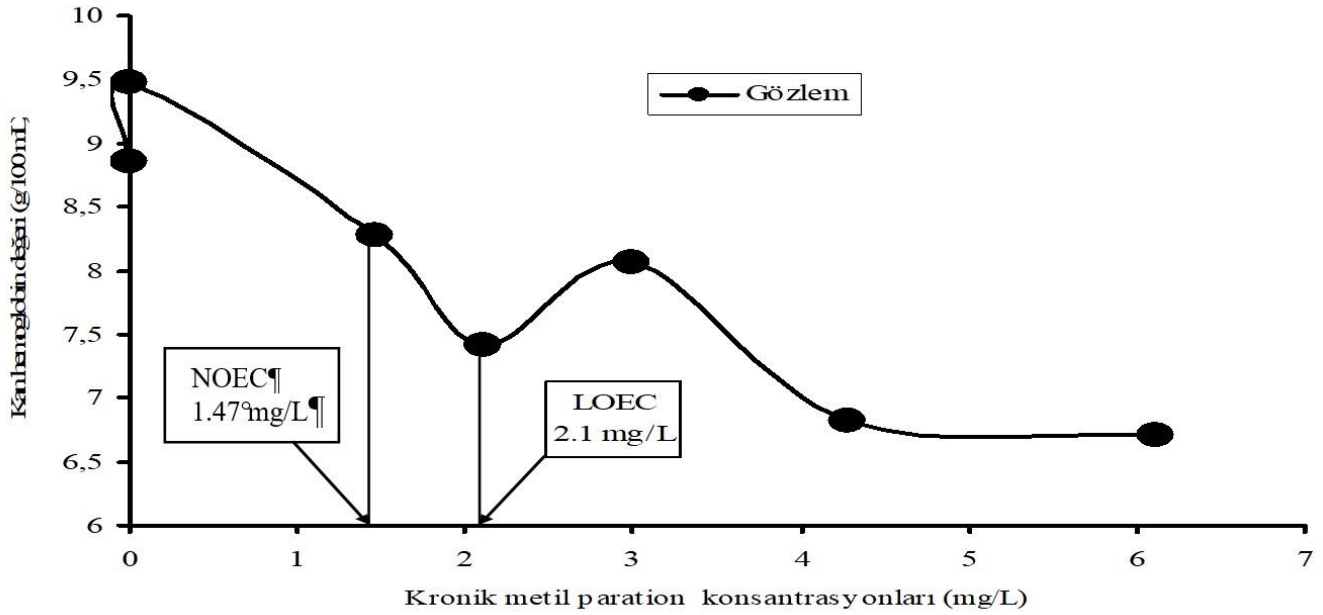
Ortalama±standart hata. [verilere $\sqrt{x+1}$ transformasyonu yapılmıştır, Düzgüneş ve ark., (1987)] n=6

Table 5. Activities of acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BChE) in muscle, brain and liver tissues removed from fish in chronic test.

Mean ± standard error. [$\sqrt{x+1}$ transformation performed on the data, Düzgüneş et al., (1987)] n=6

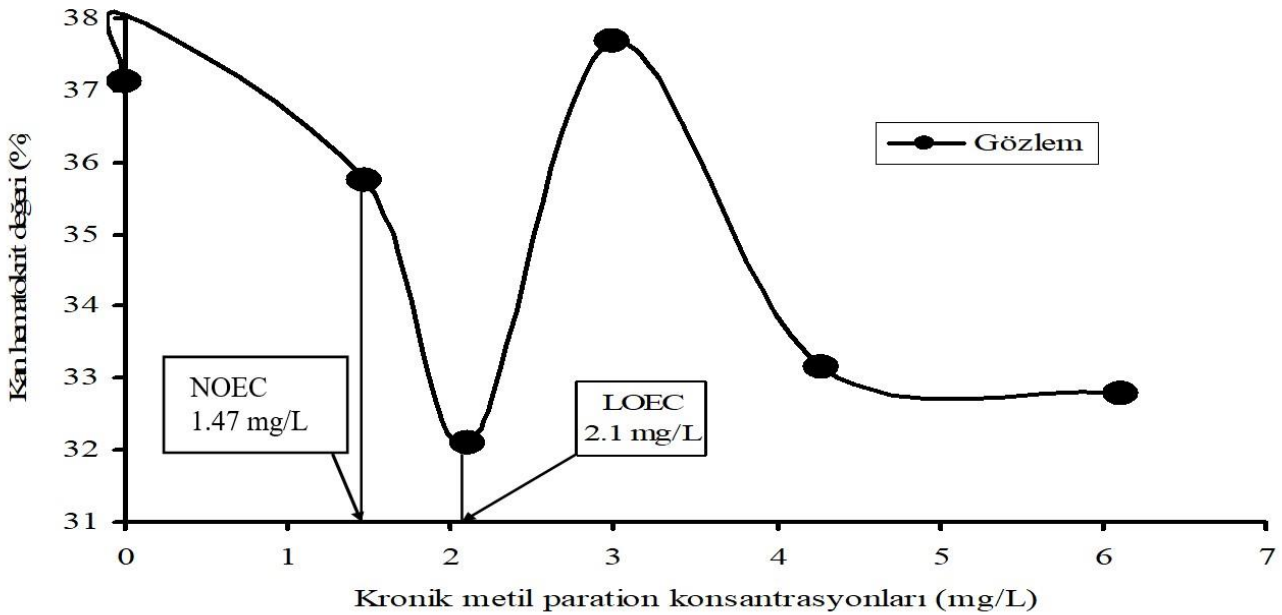
Dokular	MP Konsantrasyonu (mg/L)	Enzimler	
		AChE (EU/g doku)	BChE (EU/g doku)
Kas	0.00	1.0133±0.0053 ^a	1.0049±0.0020 ^a
Kas	952.04 (DMSO)	1.0140±0.0087 ^a	1.0037±0.0031 ^a
Kas	4.28	1.0128±0.0074 ^a	1.0060±0.0036 ^a
Beyin	0.00	1.4005±0.1343 ^a	1.0070±0.0027 ^a
Beyin	952.04 (DMSO)	1.3744±0.1608 ^a	1.0058±0.0034 ^a
Beyin	4.28	1.1770±0.0774 ^b	1.0050±0.0014 ^a
Karaciğer	0.00	1.0951±0.0147 ^a	1.0061±0.0009 ^a
Karaciğer	952.04 (DMSO)	1.0906±0.0075 ^a	1.0066±0.0005 ^a
Karaciğer	4.28	1.0557±0.0052 ^a	1.0062±0.0003 ^a

a ve b Duncan çoklu karşılaştırma testine göre, metil paration konsantrasyonuna bağlı olarak doku grupları arası, ortalama değerlerinin farklılıklarını ifade etmektedir, aynı harfi taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemsizdir (P>0.05).



Şekil 1. Kronik testte kan hemoglobin değerleri esas alınarak belirlenen LOEC ve NOEC değerleri.

Figure 1. LOEC and NOEC values determined based on blood hemoglobin values in the chronic test.



Şekil 2. Kronik testte kan hematokrit değerleri esas alınarak belirlenen LOEC ve NOEC değerleri.

Figure 2. LOEC and NOEC values determined based on blood hematocrit values in chronic test.

Kronik deneme sonucunda balıklardan alınan kas, beyin ve karaciğer dokularında ölçülen AChE ve BChE aktiviteleri Tablo 5'te verilmiştir. Buna göre, uygulanan 4.28 mg/L MP konsantrasyonunda AChE aktivitesinin kas ve karaciğer dokusunda değişmediği ($P>0.05$) ancak beyin dokusunda önemli bir azalmanın olduğu ($P<0.05$) belirlenmiştir. Bununla birlikte BChE aktivitesinin kas, beyin ve karaciğerde değişmediği ($P>0.05$) tespit edilmiştir. Rao ve Rao (1984a), MP'ye maruz bırakılan *Tilapia mossambica*'da kas, solungaç, karaciğer ve beyin dokularında AChE aktivitesinin azaldığını; Silva ve ark. (1993), OP'li MP içeren folidol 600'ün *Callichthys callichthys*'in plazma kolinesteraz aktivitesinde, denemenin başlangıcından 4 saat sonra % 90 oranında inhibisyon etkisine sahip olduğunu; Aguiar ve ark. (2004), etken maddesi MP olan Folidol 600'ün subletal konsantrasyonuna maruz bırakılan *Brycon cephalus* balığının beyin AChE aktivitesinin % 87 oranında azaldığını; Almeida ve ark. (2005), MP'ye 24 saat süreyle maruz bırakılan *Brycon cephalus*'da kas ve beyin dokusunda MP'nin düşük konsantrasyonunda AChE aktivitesinin azaldığını, inci kefalindeki bulguya benzer olarak temel inhibisyon etkisinin beyinde gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Bir çok OP'li insektisitlere maruz bırakılan akuatik organizmaların farklı dokularında AChE aktivitesinin azaldığı tespit edilmiştir (Wheelock ve ark. 2005; Chang ve ark. 2006; Attademo ve ark. 2007). OP'li insektisitlere maruz bırakılan akuatik organizmaların farklı dokularında BChE aktivitelerinde önemli azalma olduğunu (Sturm ve ark. 2000; Chuiko ve ark. 2002) ve farklı olarak BChE aktivitesinde herhangi bir değişikliğin olmadığı (Wogram ve ark. 2001) bildirilmiştir. Benzer olarak inci kefalinde de ölçülen dokularda BChE aktivitesinde değişiklik görülmemiştir.

Sonuç

İnci kefalinde MP toksisitesinin belirtileri, yüzme bozukluğu, akvaryum tabanına dik vaziyette taban boyunca dolaşma, denge kaybı, akvaryumun dibine düşme, yan yatma, kendi eksenini etrafında dairesel hareketler, suyun yüzeyine ani sıçrama hareketi, solunum sorunları, baş ve kuyruk kısmının dorsa-ventral veya lateral olarak bir yay gibi kıvrılması, asfeksi ve ölüm olarak gözlenmiştir.

İnci kefalinin yaşadığı tatlı su ortamlarında en fazla 0.1144 mg/L MP'nin bulunması güvenli konsantrasyonu oluşturmaktadır. Sularda bu değer üzerinde MP bulunmamalıdır.

Sonuç olarak MP'nin bütün konsantrasyonlarında inci kefalinde davranış bozukluklarına neden olduğu gözlenmiştir. MP'nin inci kefalini için toksik bir madde olduğu dolayısıyla

Van Gölü havzasında yaygın olarak kullanılan MP'nin kontrollü kullanılması gerektiği söylenebilir.

Teşekkür

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir (proje no: 2007-FBE-D75). Çalışmanın birçok aşamasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Hatice PARLAK, Prof. Dr. Osman ÇETİNKAYA ve katkıda bulunan ismini saymadığım tüm kişilere teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Abhijith, B.D., Ramesh, M., Poopal, R.K. (2012). Sublethal toxicological evaluation of methyl parathion on some haematological and biochemical parameters in an Indian major carp *Catla catla*. *Comparative Clinical Pathology*, 21(1), 55-61.
- Aguiar, L.H., Moraes, G., Avilez, I.M., Altran, A.E., Correa, C.F. (2004). Metabolical effects of Folidol 600 on the neotropical freshwater fish *Matrinxa, Brycon cephalus*. *Environmental Research*, 95(2), 224-230.
- Almeida, L.C., Aguiar, L.H., Moraes, G. (2005). Effect of methyl parathion on the muscle and brain acetylcholinesterase activity of *Matrinxa (Brycon cephalus)*. *Ciencia Rural, Santa Maria*, 35(6), 1412-1416.
- Alwan, S.F. (2013). Effect of aluminum exposure on some blood parameters in the *Tilapia zillii* fish. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 4(7), 2766-2769.
- Anonim. (2017a, Temmuz 19). Su ürünleri istatistikleri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=97&locale=tr> (Erişim tarihi: 19.07.2017).
- Anonim. (1995). Standart methods for the examination of water and wastewater. (19th edition) (1995-09-16). APHA, AWWA, WEF, Washington, USA, ASIN: B0146V1584
- Anonim. (2017b, Temmuz 19). Pan pesticides database-chemical toxicity studies on aquatic organisms. US. EPA Aquire, United States. http://www.pesticideinfo.org/List_Aquire-All.jsp?Rec_Id=PC35110&offset=100 (Erişim tarihi: 19.07.2017).

- Atamanalp, M., Cengiz, M. (2002). Bir sentetik piretroit insektisit (Cypermethrin)'in sublethal dozlarının *Capoeta capoeta capoeta* (Güldenstaedt, 1772)'da hemoglobin, hematokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(1-2), 169-175.
- Atamanalp, M. & Yanık, T. (2003). Alterations in hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to mancozeb. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 27(5), 1213-1217.
- Attademo, A.M., Peltzer, P.M., Lajmanovich, R.C., Cabbagna, M. & Fiorenza, G. (2007). Plasma B-Esterase and Glutathione S-Transferase activity in the Toad *Chaunus schneideri* (Amphibia, Anura) inhabiting rice agroecosystems of Argentina. *Ecotoxicology*, 16(8), 533-539.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. (1973). Routine haematological methods for use fish with blood. *Journal of Fish Biology*, 5(6), 771-781.
- Çetinkaya, O. (2005). Akuatik toksikoloji: balık biyodenyeleri. M. Karataş (Eds.), *Balık biyolojisi araştırma yöntemleri* (s. 169-217). Ankara, Nobel. ISBN 9755917578
- Chang, C.C., Lee, P.P., Hsu, J.P., Yeh, S.P., Cheng, W. (2006). Survival, and biochemical, physiological, and histopathological responses of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, to short-term trichlorfon exposure. *Aquaculture*, 253(1-4), 653-666.
- Chuiko, G.M., Podgornaya, V.A. & Lavrikova, I.V. (2002). Organophosphorus compound O, O-Dimethyl-O-(2,2-Dichlorovinyl)-Phosphate as selective inhibitor for separate determination of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in the Roach *Rutilus rutilus*. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 38(3), 264-269.
- Chuiko, G.M., Podgornaya, V.A., Zhelnin, Y.Y. (2003). Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activities in brain and plasma of freshwater teleosts: cross-species and cross-family differences. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 135(1), 55-61.
- Chupani L, Savari A, Zolgharnein H, Chupani, L., Savari, A., Zolgharnein, H., Rezaie, A., Zeinali, M., (2016). (2016). Enzymatic and histopathologic biomarkers in the flatfish *Euryglossa orientalis* from the northwestern Persian Gulf. *Toxicology and Industrial Health* 32(5): 866-876.
- De La Vega Salazar M.Y., Tabche, L.M., Garcia, C.M. (1997). Bioaccumulation of methyl parathion and its toxicology in several species of the freshwater community in Ignacio Ramirez Dam in Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38(1), 53-62.
- Duyar, H.A. (2000). *İnci kefalı (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) kas ve yumurtasının kimyasal kompozisyonu ve kroket yapımı üzerine bir araştırma* (doktora tezi, basılmamış). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, O. & Gürbüz, F. (1987). *Araştırma ve Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II)*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın: 1021, Ders Kitabı: 295, Ankara, 381 s.
- Edwards, F. & Tchounwou, P.B. (2005). Environmental toxicology and health effects associated with metyhl parathion exposure-a scientific review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2(3), 430-441.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V.Jr. & Featherstone, R.M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-90, IN1, 91-95.
- Elp, M. (1996). *İnci kefalı (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) 'nin üreme biyolojisi üzerine bir araştırma* (yüksek lisans tezi, basılmamış). Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Houston, A.H. (1990). Blood and circulation. C.B. Schreck & P.B. Moyle (Eds.), *Methods for Fish Biology* (p.273-334). American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA, ISBN 091323558X
- Isik, I., Celik, I. (2008). Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 92(1), 38-42.

- John, P.J. (2007). Alteration of certain blood parameters of freshwater teleost *Mystus vittatus* after chronic exposure to Metasystox and Sevin. *Fish Physiology Biochemistry*, 33(1), 15-20.
- Kalipci, E., Özdemir, C., Öztas, F., Sahinkaya, S. (2010). Ecotoxicological effects of methyl parathion on living things and environment. *African Journal of Agricultural Research*, 5(8), 712-718.
- Kankaya, E., Kaptaner, B. (2014). Increased apoptosis in the liver of *Chalcalburnus tarichi* exposed to sublethal concentrations of methyl parathion. *Journal of Applied Biological Sciences*, 8(1), 45-48.
- Kankaya, E., Arslan, Ö.Ç., Parlak, H., Ünal, G. (2012). Induction of micronuclei in *Chalcalburnus tarichi* (Pallas, 1811) exposed to sub-lethal concentrations of methyl parathion. *Fresenius Environmental Bulletin*, 21(6), 1417-1421.
- Katalay, S., Parlak, H. (2002). Su kirliliğinin, *Gobius niger* Linn., 1758 (Pisces: Gobiidae)'in kan parametreleri üzerine etkileri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 19(1-2), 115-121.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G. (1977). Preliminary investigation on some haematological norms in five freshwater fish species. *Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 4(1-2), 28-40.
- Kocabatmaz, M., Ekingen, G. (1984). Değişik tür balıklarda kan örneği alınması ve hematolojik metotların standardizasyonu. *Doğa Bilim Dergisi*, D1, 8(2), 149-159.
- Kumar, S., Lata, S., Gopal, K. (1999). Deltamethrin induced physiological changes in freshwater cat fish *Heteropneustes fossilis*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62(3), 254-258.
- Lakshmaiah, G. (2016). A histopathological study on the liver of common carp *Cyprinus carpio* exposed to sublethal concentrations of phorate. *International Journal of Applied Research*, 2(6), 96-100.
- Lionetto, M.G., Caricato, R., Giordano, M.E., Pascariello, M.F., Marinosci, L. & Schettino, T. (2003). Integrated use of biomarkers (acetylcholinesterase and antioxidant enzymes activities) in *Mytilus galloprovincialis* and *Mullus barbatus* in an Italian coastal marine area. *Marine Pollution Bulletin*, 46(3), 324-330.
- Macek, K.J., McAllister, W.A. (1970). Insecticide susceptibility of some common fish family representatives. *Transactions of the American Fisheries Society*, 99(1), 20-27.
- Machado, M.R., Fanta, E. (2003). Effects of the organophosphorous methyl parathion on the branchial epithelium of a freshwater fish *Metynnis roosevelti*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 46(3), 361-372.
- Milam, C.D., Bouldin, J.L., Farris, J.L., Schulz, R., Moore, M.T., Bennett, E.R., Cooper, C.M. & Smith, S.Jr. (2004). Evaluating acute toxicity of methyl parathion application in constructed wetland mesocosms. *Environmental Toxicology*, 19(5), 471-479.
- Monteiro, D.A., Almeida, J.A., Rantin, F.T. & Kalinin, A.L. (2006). Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide folisuper 600 (methyl parathion). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 143(2): 141-149.
- Murthy, K.S., Kiran, B.R. & Venkateshwarlu, M. (2013). A review on toxicity of pesticides in fish. *International Journal of Open Scientific Research*, 1(1), 15-36.
- Murty, A.S. (1984). Toxicity of methyl parathion and fen-sulfothion to the fish *Mystus cavasius*. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 34(1), 37-46.
- Nagaratnamma, R., Ramamurthi, R. (1981). Comparative evaluation of methyl parathion toxicity to some selected freshwater organisms. *Current Science*, 50(7), 334-335.
- OECD. (2000). *Fish Juvenile Growth Test*. OECD TG 215 (2000), C.14, Dir 2001/59/EC (O. J. L 225 2001).
- Rao, K.S.P., Rao, K.V.R. (1984a). Changes in the tissue lipid profiles of fish (*Oreochromis mossambicus*) during methyl parathion toxicity-a time course study. *Toxicology Letters*, 21(2), 147-153.

- Rao, K.S.P., Rao, K.V.R. (1984b). Impact of methyl parathion toxicity and eserine inhibition on acetylcholinesterase activity in tissues of the teleost (*Tilapia mossambica*)-a correlative study. *Toxicology Letters*, 22(3), 351-356.
- Salles, J.B., Lopes, R.M., Salles, C.M.C., Vicente, P., Casano, F., Oliveira, M.M., Bastos, V.L.F.C., Bastos, J.C. (2015). Bioconcentration and acute intoxication of Brazilian freshwater fishes by the methyl parathion organophosphate pesticide. *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, 2015, 1-9.
- Santhakumar, M., Balaji, M., Ramudu, K. (1999). Effect of sublethal concentrations of monocrotophos on erythropoietic activity and certain hematological parameters of fish *Anabas testudineus* (Bloch). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 63(3), 379-384.
- SAS. (1998). SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Saxena, K.K. & Seth, N. (2002). Toxic effects of cypermethrin on certain hematological aspects of fresh water fish *Channa punctatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(3), 364-369.
- Silva, H.C., Medina, H.S.G., Fanta, E. & Bacila, M. (1993). Sub-lethal effects of the organophosphate folidol 600 (methyl parathion) on *Callichthys callichthys* (pisces: teleostei). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 105(2), 197-201.
- Singh, B.K. & Walker, A. (2006). Microbial degradation of organophosphorus compounds. *Federation of European Microbiological Societies*, 30(3), 428-471.
- Sivaperumal, P. & Sankar, T.V. (2011). Toxic effects of methyl parathion on antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activity in freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fishery Technology*, 48(1), 59-66.
- Sturm, A., Wogram, J., Segner, H., Liess, M. (2000). Different sensitivity to organophosphates of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): application in biomonitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(6), 1607-1615.
- Sürücü, K. (2005). *Organik fosforlu pestisitlerden malathionun inci kefali (Chalcalburnus tarichi Pallas, 1811) üzerindeki akut toksisitesinin belirlenmesi* (yüksek lisans tezi, basılmamış). Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Svobodova, Z., Luskova, V., Drastichova, J., Svoboda, M., Zlabek, V. (2003). Effect of deltamethrin on haematological indices of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Acta Veterinaria Brno*, 72(1), 79-85.
- Ünsal, M. (1998). *Kirlilik deneyleri: yöntemler ve sonuçların değerlendirilmesi*. TKB, Su Ürünleri Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Bodrum, Seri A, No.11, 168.
- USEPA. (1989). *Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms*. EPA 600/4-89/001. Office of Research and Development, U.S. EPA, Cincinnati, OH, USA.
- USEPA. (1991). *Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms*. EPA 600/4-90/027. Office of Research and Development, U.S. EPA, Washington, D.C., USA.
- Wheelock, C.E., Eder, K.J., Werner, I., Huang, H., Jones, P.D., Brammell, B.F., Elskus, A.A. & Hammock, B.D. (2005). Individual variability in esterase activity and CYP1A levels in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) exposed to esfenvalerate and chlorpyrifos. *Aquatic Toxicology*, 74(2), 172-192.
- Wogram, J., Sturm, A., Segner, H. & Liess, M. (2001). Effects of parathion on acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and carboxylesterase in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) following short-term exposure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(7), 1528-1531.

AN OBSERVATION ON INTRACAPSULAR AND POST-EMBRYONIC PHASES OF RIVER NERITE (*Theodoxus fluviatilis*)

Mehmet Güler , Deniz Çoban , Birsen Kırım 

Cite this article as:

Güler, M., Çoban, D., Kırım, B. (2018). An Observation on Intracapsular and Post-Embryonic Phases of River Nerite (*Theodoxus fluviatilis*). Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research, 4(1), 46-54. DOI: 10.3153/JAEFR18005

Adnan Menderes University, Faculty of Agriculture, Department of Aquaculture and Fisheries, Aydın, Turkey

Submitted: 14.08.2017

Accepted: 24.12.2017

Published online: 27.12.2017

Correspondence:

Mehmet GÜLER

E-mail: mehmetguler@adu.edu.tr

Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research

E-ISSN 2149-0236

4(1), 46-54 (2018)

DOI: 10.3153/JAEFR18005

ScientificWebJournals (SWJ)
©2015-2018

ABSTRACT

The river nerite (*Theodoxus fluviatilis*, Linnaeus, 1758) is one of the most common gastropod grazer species in Europe inland and brackish waters. Its feeding activity significantly impacts on periphyton which has a decisive role on the water parameters and the population dynamics. In the present study, reproductive outputs and larval phases of the river nerites were examined via field collected and laboratory cultivated samplings. The length of capsules laid by adults was between 0.7 and 1.1 mm. Viable embryos were detected first on the 33rd day post-spawning. After few development phases embryo reached a ready-to-hatch phase with completely developed foot and pigmented protoconch before hatching. There was never more than one embryo per capsule. The earliest hatching was observed on the 53rd day of spawning. But most of the embryos did not hatch even they were fully developed. The shell length of the hatchlings was about 0.8 and the width was 0.6 mm. It was estimated that the length of a newly hatched crawling juvenile can be about 1/7 of the length of an adult.

Keywords: Gastropod, Neritidae, Egg capsule, Embryonic development

Introduction

Macrograzers play an important role in both sea and freshwater benthic systems due to their feeding on periphyton (Calow 1975; Underwood, 1981); the change in the amount of periphyton in a system can be decisive on the water parameters and the population dynamics of the organisms (Ramesh et al. 1999; Azim et al. 2004). The river nerite (*Theodoxus fluviatilis*, Linnaeus, 1758) is one of the most common gastropod grazer species in Europe freshwater and brackish water systems and occurs in Western Asia (Özbek et al. 2004; Ustaoglu et al. 2003; Şahin and Yıldırım 2007; Symanowski and Hildebrandt, 2010; Glöer and Pešić 2012) and has a significant reduction effect on the periphyton by its feeding activity (Råberg and Kautsky 2007; Peters and Traunspurger 2012).

Due to its versatile, wide distribution, complex habitat (Bunje 2005) and ecological importance, considerably number of study was conducted on *T. fluviatilis*: the aspects about phylogeny and dispersal range (Carlsson 2000; Bunje 2005), growth and population dynamics (Orton and Sibly 1990; Kirkegaard 2006; Graça et al. 2012), morphological features (Zettler et al. 2004; Anistratenko 2005; Glöer and Pešić 2015), feeding ecology and grazing (Jacoby 1985; Råberg and Kautsky 2007; Peters and Traunspurger 2012) and tolerance to the environmental stressors (Skoog 1976; Kangas and Skoog 1978; Symanowski and Hildebrandt 2010) were studied before. But surprisingly, little is known about the early life history and very little research were made on the reproductive biology of this species, except several studies (Fretter and Graham 1962; Orton and Sibly 1990) and mostly focused on the productivity or pre-fertilization (Giusti and Selmi 1982; Kirkegaard 2006; Graça et al. 2012). In fact, information about the reproduction biology of family Neritidae is limited in general. Generally it is difficult to make observation on the intracapsular phases of nerites due to opaque structure of the capsules and therefore information on the early phases of these species is limited.

Larval phases determine the postlarval characteristics (Rivest 1983; Krug 1998; Collin et al. 2007) and dispersal potential of the juveniles or/and adults (Pechenik 1999). In the present study, larval phases of the river nerites were observed to prepare some descriptions on their early life phases. And reproductive outputs of this species were examined via field collected and laboratory cultivated samplings to obtain knowledge that can be used in modelling, stock management and cultivation studies.

Materials and Methods

All of the specimens (nerites and egg capsules) were collected gently with hand from Yuvarlakçay stream (Köyceğiz, Muğla, Turkey) between 2013 November and 2014 July. The initial collected specimens were used in the pre-experiments to find suitable experimental setup. Generally nerites were found under rocks and rarely attached to roots. Egg capsules were collected with the rocks that they already attached, without detachment. All of the material were transferred to the laboratories alive at the same day in water filled containers with portable aerator and -when necessary ice addition to prevent high water temperatures (above 20 °C). The species identification was made morphologically according to Zettler et al. (2004) and Glöer and Pešić (2015), with extracting and examining of the radulae and operculum of the specimens under stereo microscope.

Nerites were grouped and taken to the 40 L stock aquariums, equipped with aeration, heaters and filters. Observations were maintained in six all glass experiment aquariums (filled with 15 L water) with small rocks. While 5 of the aquariums contained nerites, one aquarium contains only egg capsules (from the field) with the rocks they already attached. Because the nerites were extremely sensitive to unsteady conditions (according to pre-observations), every two aquariums were grouped and connected to a larger aquarium (40 L) which equipped with aeration and filters (nerites had no chance to escape from experiment aquarium to additional aquarium). Therefore larger volume (about 70 L) and miniature recirculating systems were set up in order to provide more stable water conditions (Figure 1). Additionally, 15 glass jars (800ml) were placed in a large aquarium (filled with water at the same level as the water in the jars) to record the number of capsule per female; one randomly chosen nerite was placed in each jar. The water temperature was kept between 18–20 °C to maintain reproduction activities and embryonic development (Skoog 1976). The laboratories were air-conditioned but ice addition with the plastic bags to aquariums was made when necessary. Initial measurements of the dissolved O₂ were made by portable multi-parameter meter (WTW Multi 3420); DO in aquariums never dropped below 90% saturation, during the experimental period.



Figure 1. Photograph from a pre-experiment which has a similar setup.

Nerites were measured with caliper prior to the experiments and placed into the experiment aquariums. Experimental setups monitored continuously. Biometric measurements of the collected (from the field) and spawned (at the laboratory) capsules were made with an image analyses software (Imagefocus3) using high resolution digital photographs taken by a microscope mounted digital camera (Cmex 5000 digital camera, Novex RZ stereo microscope) according to Barroso and Matthews-Cascon (2009). Because of their opaque structure, capsules opened with a scalpel in order to examine intracapsular inclusions. Intracapsular examinations were made with the same microscope, camera and software setup. After hatching, the characteristics of the newly hatched juveniles were examined with the same setup again.

Regressions of the shell length (SL, mm) against shell width (SW, mm) of the nerites ($n=63$), length (CL, mm) against width (CW, mm) of the egg capsules ($n=79$) and shell length (SL, mm) against shell width (SW, mm) of the hatchlings/ready to hatch individuals ($n=17$) were made to describe the general morphology. Given the size ranges of nerites, capsules and hatchlings, results were logarithm (\log_{10}) transformed prior to analyses to remove any potential effects due to allometry (Mascaro et al., 2014). But linear regression of the actual sizes was also made to find relationship

formula. Changes in the sizes of the capsules during experiments were tested with one way ANOVA.

Results and Discussion

The shell length and the width relation of the nerites were found to be related (Figure 2). Mating was observed rarely but continued until the end of the experiments (Figure 3a). Egg laying was first observed in the middle of May at $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ water temperature. The capsules were attached firmly to the stones that placed into the aquarium. At the field, capsules were found under rocks and rarely on tree roots. Capsules, both in the natural environment and in the laboratory, were circular-elliptical, rigid and translucent-opaque (Figure 3b, Figure 5c); at the beginning they were white, and then darkened to dark cream-light brown. The last capsule laying event in laboratory was recorded at the end of July ($18\text{ }^{\circ}\text{C}$). The mean capsule length was $1002\pm 83\text{ }\mu\text{m}$ ($\pm\text{SD}$, $\text{min}=710$, $\text{max}=1138$) and the mean width was $832\pm 84\text{ }\mu\text{m}$ ($623\text{--}977\text{ }\mu\text{m}$) and following equation was found between length (L) and the width (W) of the capsules: $W=0.738+92.672$ ($R^2=0.53$) (Figure 4). Sizes of the capsules did not change during the time between laying and hatching (ANOVA, $\text{df}=3$, $F=1.03$, $p=0.39$). Capsules were filled with a transparent and viscose liquid and eggs.

Viable embryos were detected first on the 33rd day post-spawning with eyes (Figure 5a). At this phase, embryonic shell (protoconch) started to form and its length was measured $275\text{ }\mu\text{m}$ and the width was $222\text{ }\mu\text{m}$. After this phase a rapid development was observed; the next week larvae reached $310\pm 29\text{ }\mu\text{m}$ ($250\text{--}360$) shell length and $247\pm 30\text{ }\mu\text{m}$ ($190\text{--}290$) shell width (Figure 5b). After few development phases embryo reached a ready to hatch phase with completely developed foot and pigmented protoconch before the exit (Figure 5c). There was never more than one embryo per capsule. The earliest hatching was observed on the 53rd day of laying (between 53–65 days). But most of the embryos did not hatch even they were fully developed (having the same characteristics with the hatched individuals). The shell length of the hatchlings (Figure 5d) was $785\pm 35\text{ }\mu\text{m}$ ($n=5$; $755\text{--}839$), and the width was $624\pm 42\text{ }\mu\text{m}$ ($566\text{--}670$). With pooling all of the data from the hatchlings and ready to hatch (but not naturally hatched) individuals, this equation was found between shell length (SL) and the width (W) of the hatchlings: $SL=0.888W+228.91$ ($R^2=0.71$), (Figure 6).

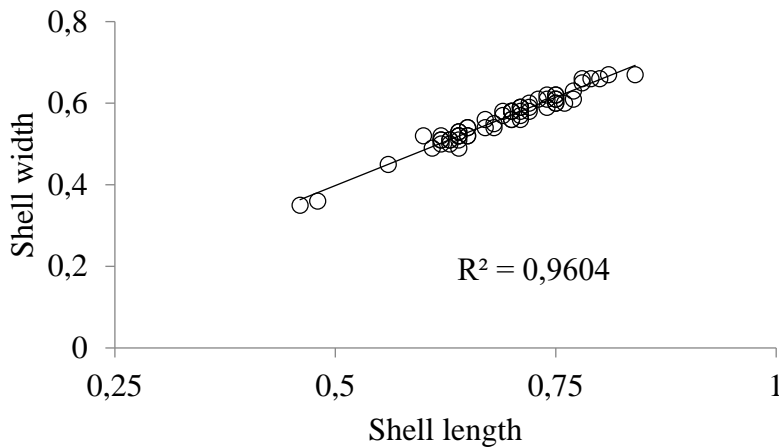


Figure 2. Regressions of shell length against shell width of the nerites within the 2.9–6.8 mm length and 2.22–4.66 mm width ranges (n=63). Data are logarithm (Log10) transformed.

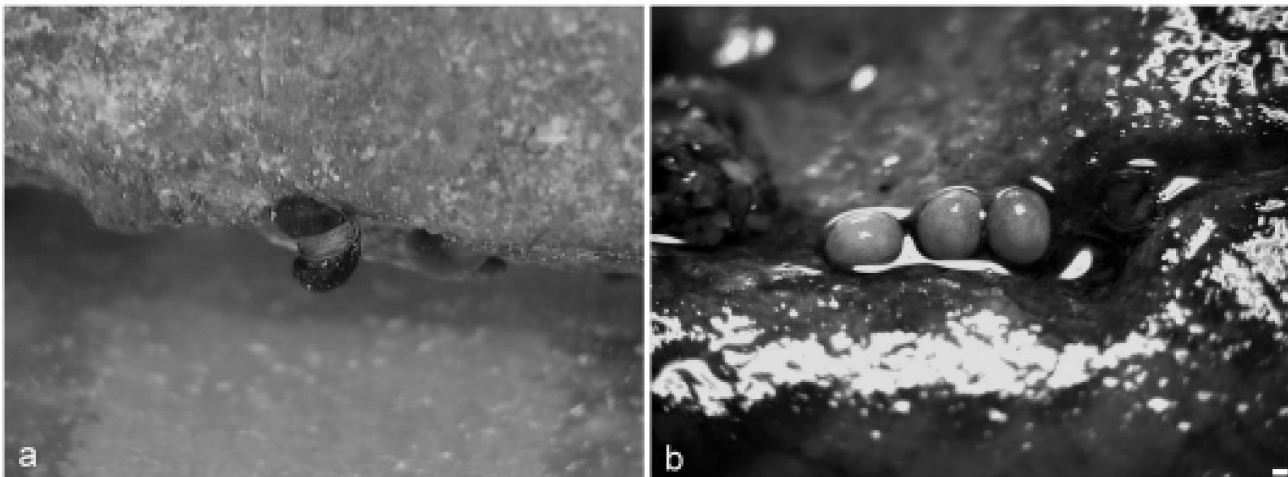


Figure 3. (a) Mating, (b) egg capsules laid by the same female on a stone in the experiment aquarium (Scale bar=200 μ m).

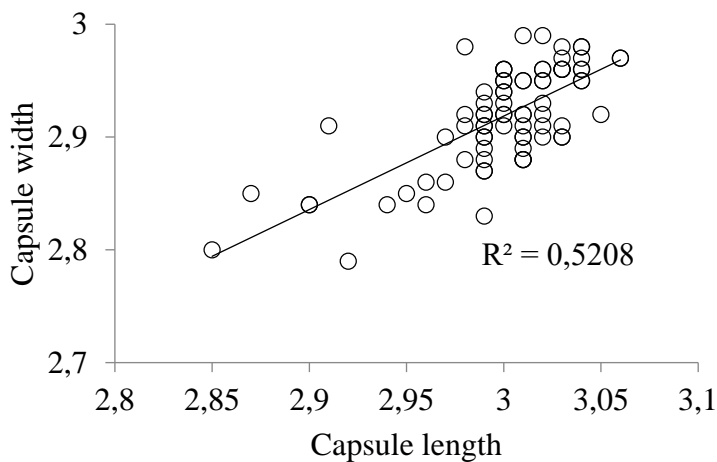


Figure 4. Regressions of capsule length against capsule width within the 710–1138 capsule length range and 623–977 μ m capsule width range (n=79). Data are logarithm transformed.

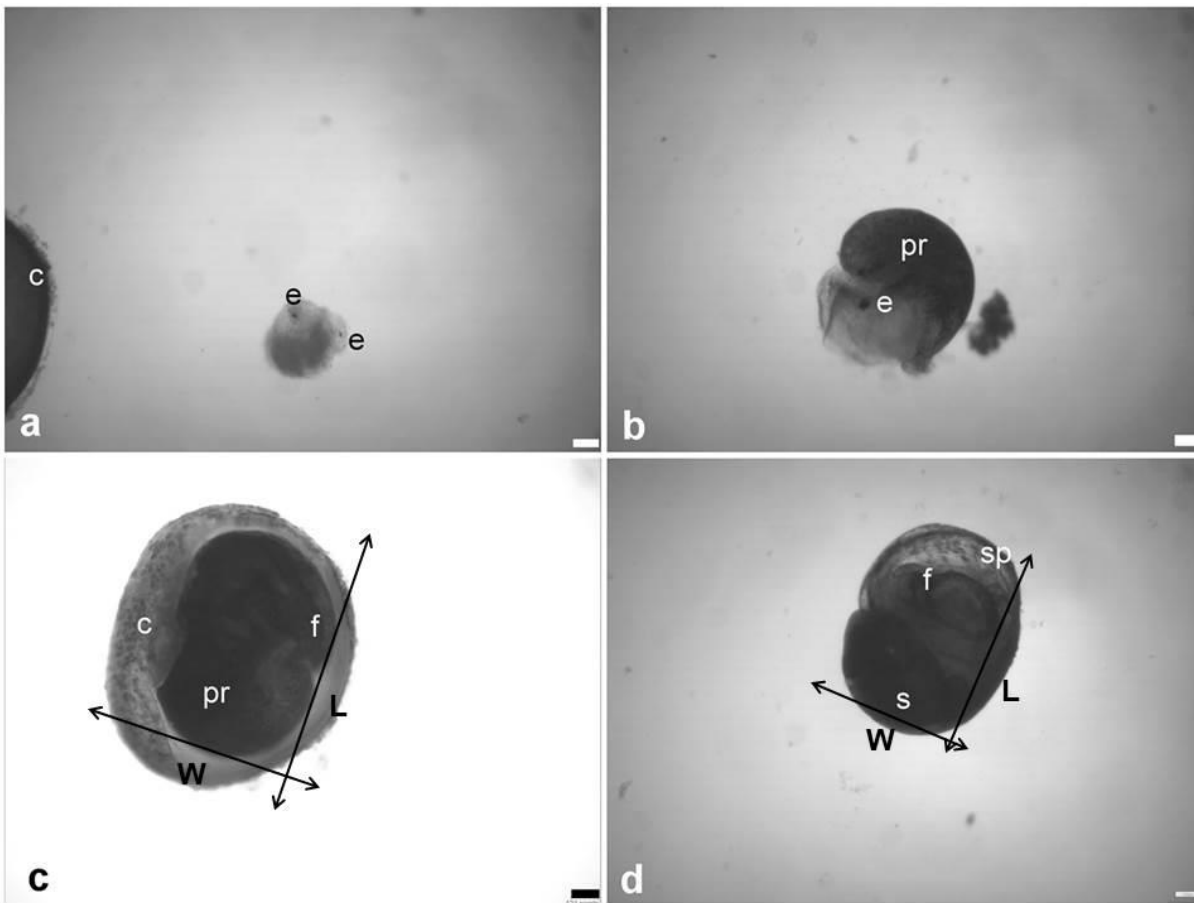


Figure 5. (a) Viable embryo, at the first observation; (b) pre-hatching larvae; (c) fully developed and ready to hatch larva in the capsule; (d) crawling juvenile nerite. c, capsule; e, eye; pr, protoconch; f, foot; s, shell; sp, shell pigmentations; L, length; W, width. Scale bars: 100 μ m.

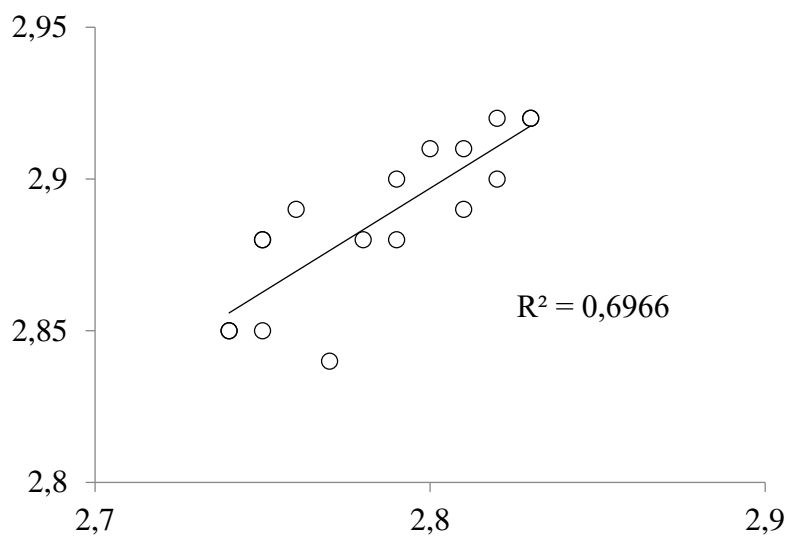


Figure 6. Regressions of shell length (693-839 μ m range) against shell width (546-681 μ m range) of the hatchlings and ready to hatch individuals. Data are logarithm transformed.

All of the members of family Neritidae lay their eggs in egg capsules but different species have different development modes. For example brackish water nerites *Clithon spinosus*, *Neritina latissima*, have generally short term planktotrophic larval stages (Ford 1979; Resh et al. 1992; Matthews-Cascon and Martins 1999). Marine species like *Nerita atramentosa*, *N. plicata* spend much longer period (up to 6 months) at the plankton as planktotrophic veligers (Underwood 1975; Kano 2006). The development mode *Theodoxus* is intracapsular metamorphosis or direct development, all of the larval phases are completed in the egg capsules and crawling hatchlings are fully developed before the hatching (Fretter and Graham 1962; Orton and Sibly 1990; Bunje 2005). In the present study, all of the observed larvae completed their metamorphosis in the capsules, and no escape was detected until the end of larval period and becoming miniatures of the adults. This result is compatible with the earlier studies (Kirkegaard 2006) on *T. fluviatilis*. Velar structures in planktotrophic species are well-developed that suitable for swimming and feeding (Moran 1997) and also can be well-developed in non-planktotrophic species and can be used for intracapsular feeding (Güler and Lök, 2014). At the present study velar structures were not clearly observed but movement of the early embryos might have been provided by an under developed velum. But Collin (2004) showed that the possibility of the losing all velar characters in two direct developer (nurse eggs, single embryo per capsule) *Crepidula* (Gastropoda, Calyptraeidae) species and this situation can be valid for *T. fluviatilis* too.

T. fluviatilis shows oophagic development with nurse eggs. At the spawning, egg capsule contains 50 to 200 eggs, only one of them develops and the others serve as nutrition for the embryo (Bondesen 1940; Carlsson 2000). According to the results of the study, each egg capsule contains only one live embryo, so that only one live non-planktonic juvenile is hatchling from each capsule. It is normal that non-planktotrophic or direct developer gastropods produce fewer hatchlings per capsule than species that spend their early life at the plankton (Pechenik 1979; Collin 2003). However single embryo production is rare and already fewer hatchlings per capsule is a disadvantage for continuity of the generation (Pechenik 1979). At this point the number of capsules laid by one female comes forward as an important reproductive success parameter. The number of capsule per female was found quite different at the present study compared to the reports of Kirkegaard (2006) from a field study. Kirkegaard (2006) estimated that one female can lay approximately 40 capsules per spawning season at the field, but not dependent

on a direct observation. According to an earlier study, one female can lay about 10 capsules per season (Bondesen 1940). At the present study one female laid maximum four capsules; as far as can be observed. But the differences simply can be associated with the differences of laboratory and field conditions or different temperatures that could induce different metabolic responses (Cumplido et al. 2011) or any stressor/stressors at the laboratory conditions. Moreover sizes of the capsules were slightly different from the findings of Kirkegaard (2006). Kirkegaard (2006) reported between 0.9 and 1.1 mm for intact capsules and 0.5-0.8 mm for empty capsules, and according to Neumann (1959) empty capsules are sterile. We recorded between ~0.7 and 1.1 mm capsule size and none of them are empty or sterile (both laboratory and field samples). The sizes of the capsules did not change at the larval period, this observation may support the explanation of Neumann (1959) that the empty capsules are sterile. If the empty capsules were filled at the beginning they must get larger by the time because sizes of the filled capsules were found at the common sizes every time (more than 0.9 mm by Kirkegaard (2006) and more than 0.7 mm by the present study). We found that the capsule sizes did not change at the larval period. So the small capsules might be sterile and might be empty from the spawning because they do not expand.

During the study only 5 hatching event was observed, although there are many more intact capsules available at the experimental setup. The mechanism of hatching or larval release from the egg capsule is still unknown for many gastropod species (Pechenik 1986; Tan and Lee 2009; Przeslawski 2011) including *T. fluviatilis* (to authors' knowledge). For some marine species a chemical mechanism was described. For example some *Tritia* species (family Nassariidae) and *Ocenebra erinaceus* (Muricidae) hatch or escape from the egg capsules with removal of the plug of the capsules after an intracapsular chemical process (Pechenik 1986; Hawkins and Hutchinson 1988). For nerites, environmental factors at the natural habitat like currents or waves can effect to the hatching mechanism (Przeslawski 2011). For example Lesoway and Page (2008) reported that the embryos of *Nerita atramentosa* (Neritidae) do not hatch at the laboratory conditions unless the egg capsules opened artificially. Przeslawski (2011) suggested the effect of wave action to explain this situation as well as her personal observations on the emerging time from capsule. Generally *T. fluviatilis* is morphologically adapted to live in streams with swift currents and at the wave zone of lakes (Kirkegaard 2006). Considering the -relatively stationary environment of the experimental setups, this suggestion may be explain our

findings. Moreover other environmental factors like temperature can regulate or delay the realising time of larvae (or post larva) as adaptation to increase chances of survival in changing environmental conditions (Barroso and Matthews-Cascon 2009; Przeslawski 2011).

The mean hatching size was recorded about 0.8 mm at the present study. The sexual maturity size of *T. fluviatilis* is 5.5 mm in shell length (Skoog 1971) so the length of a newly hatched juvenile can be calculated as about 1/7 of an adults'. The size of these hatchlings can be considered normal for a species with direct development but hatchling size/adult size ratio is remarkable (Collin 2003). Big hatchlings are generally more resistant to environmental conditions (Pechenik 1979; Etter 1989) and less likely to be consumed by predators (Gosselin 1997). And it seems that *T. fluviatilis* tries to produce the largest hatchlings possible. Similar situation were reported before for two *Crepidula* species with the similar embryonic development characteristics like single embryo per capsule, nurse eggs, very big hatchlings (Collin, 2004).

Conclusion

In summary, *T. fluviatilis* can be described as a species with no planktonic-planktotrophic larval stage and thus probably has a limited dispersal potential. Moreover, only single embryo production per capsule can be considered as an additional disadvantage in terms of continuity of the generation. In contrast, egg capsules of the river nerites have a solid-hard structure that can guarantee a successful larval stage without any disruption. As we seen in our study, the hatchlings of *T. fluviatilis* are fully developed, quite big (when considering the size of adults) and are miniature of the adults. Despite their disadvantages, it is commonly assumed that the species complete their development in this way are more resistant to dangers of early life than planktotrophic-planktonic relatives, and limited dispersal capacity may have some advantages like post larval development in favourable natal habitat (Pechenik 1999; Krug 1998).

Acknowledges

This study was supported by Adnan Menderes University Research Projects (BAP project no: ZRF-13007). Authors thank Dr. Michael Zettler for his help in identification of the species, Hafize Sert for help in biometric measurements, Kılıç Deniz Ürünleri A.Ş. for the equipment and İlmiye Güler for her work in the field. The authors are also grateful to the anonymous referees that helped to improve the manuscript.

References

- Anistratenko, V.V. (2005). Lectotypes for *Tricolia pullus*, *Gibbula divaricata* and *Theodoxus fluviatilis* (Mollusca, Gastropoda) revisited. *Vestnik zoologii*, 39(6), 3-10.
- Azim, M.E., Wahab, M.A., Biswas, P.K., Asaeda, T., Fujino, T., Verdegem, M.C.J. (2004). The effect of periphyton substrate density on production in freshwater polyculture ponds. *Aquaculture*, 232(1-4), 441-453.
- Barroso, C.X., Matthews-Cascon, H. (2009). Spawning and intra-capsular development of *Neritina zebra* (bruguère, 1792) (mollusca: Gastropoda: Neritidae) under laboratory conditions. *Invertebrate Reproduction and Development*, 53(3), 137-143.
- Bondesen, P. (1940). Preliminary investigations into the development of *Neritina fluviatilis* L. in Brackish and Fresh Water. *Videnskabelige Meddelelser fra Dansk Naturhistorisk Forening*, 104, 157-220.
- Bunje, P.M.E. (2005). Pan-european phylogeography of the aquatic snail *Theodoxus fluviatilis* (gastropoda: Neritidae). *Molecular Ecology*, 14(14), 4323-4340.
- Calow, P. (1975). The feeding strategies of two freshwater gastropods, *Ancylus fluviatilis* müll. and *Planorbis contortus* linn. (pulmonata), in terms of ingestion rates and absorption efficiencies. *Oecologia*, 20(1), 33-49.
- Carlsson, R. (2000). The distribution of the gastropods *Theodoxus fluviatilis* (L.) and *potamopyrgus antipodarum* (gray) in lakes on the åland islands, southwestern Finland. *Boreal Environment Research*, 5(3), 187-195.
- Collin, R. (2003). Worldwide patterns in mode of development in calyptraeid gastropods. *Marine Ecology Progress Series*, 247, 103-122.
- Collin, R. (2004). Phylogenetic Effects, the Loss of Complex Characters, and the Evolution of Development in Calyptraeid Gastropods. *Evolution*, 58(7), 1488-1502.
- Collin, R., Chaparro, O.R., Winkler, F., Veliz, D. (2007). Molecular phylogenetic and embryological evidence that feeding larvae have been reacquired in a marine gastropod. *Biological Bulletin*, 212, 83-92.

- Cumplido, M., Pappalardo, P., Fernandez, M., Averbuj, A., Bigatti, G. (2011). Embryonic development, feeding and intracapsular oxygen availability in *Trophon geversianus* (Gastropoda: Muricidae). *Journal of Molluscan Studies*, 77, 429-436.
- Etter, R. J. (1989). Life history variation in the intertidal snail *Nucella lapillus* across a wave-exposure gradient. *Ecology*, 70, 1857-1876.
- Ford, J.I. (1979). *Biology of a Hawaiian fluvial gastropod Neritina granosa (Prosobranchia: Neritidae)*. M.Sc. dissertation, University of Hawaii, Hawaii, USA.
- Fretter, V. & Graham, A. (1962). British Prosobranch Molluscs: Their Functional Anatomy and Ecology. Ray Society, London. ISBN 0903874121
- Giusti, F., Selmi, M. G. (1982). The morphological peculiarities of the typical spermatozoa of *theodoxus fluviatilis* (L.) (neritoidea) and their implications for motility. *Journal of Ultrastructure Research*, 78(2), 166-177.
- Glöer, P., Pešič, V. (2012). The freshwater snails (Gastropoda) of Iran, with descriptions of two new genera and eight new species. *ZooKeys*, 219, 11-61.
- Glöer, P., Pešič, V. (2015). The morphological plasticity of *Theodoxus fluviatilis* (Linnaeus, 1758) (mollusca: Gastropoda: Neritidae). *Ecologica Montenegrina*, 2(2), 88-92.
- Gosselin, L.A. (1997). An ecological transition during juvenile life in a marine snail. *Marine Ecology Progress Series*, 157, 185-194.
- Graça, M.A.S., Serra S.R.Q., Fereria V. (2012). A stable temperature may favour continuous reproduction by *Theodoxus fluviatilis* and explain its high densities in some karstic springs. *Limnetica*, 31(1), 129-140.
- Güler, M., Lök, A. (2014). Embryonic development and intracapsular feeding in *Hexaplex trunculus* (Gastropoda: Muricidae). *Marine Ecology* 35(2), 193-203.
- Hawkins, L.E., Hutchinson, S. (1988). Egg capsule structure and hatching mechanism of *Ocenebra erinacea* (L.) (Prosobranchia: Muricidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 119(3), 269-283.
- Jacoby, J.M. (1985). Grazing effects on periphyton by *theodoxus fluviatilis* (gastropoda) in a lowland stream. *Journal of Freshwater Ecology*, 3(2), 265-274.
- Kangas, P., Skoog, G. (1978). Salinity tolerance of *theodoxus fluviatilis* (mollusca, gastropoda) from freshwater and from different salinity regimes in the Baltic Sea. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 6(4), 409-416.
- Kano, Y. (2006). Usefulness of the opercular nucleus for inferring early development in neritomorph gastropods. *Journal of Morphology*, 267, 1120-1136.
- Kirkegaard, J. (2006). Life history, growth and production of *Theodoxus fluviatilis* in Lake Esrom, Denmark. *Limnologia*, 36 (1), 26-41.
- Krug, P.J. (1998). Poecilogony in an estuarine opisthobranch: planktotrophy, lecithotrophy, and mixed clutches in a population of the ascoglossan *Alderia modesta*. *Marine Biology*, 132, 483-494.
- Lesoway, M.P., Page, L.R. (2008). Growth and differentiation during delayed metamorphosis of feeding gastropod larvae: Signatures of ancestry and innovation. *Marine Biology*, 153, 723-734.
- Mascaro, J., Litton, C.M., Hughes, R.F., Uowolo, A., Schnitzer, S. A. (2014). Is logarithmic transformation necessary in allometry? Ten, one-hundred, one-thousand-times yes. *Biological Journal of the Linnean Society*, 111: 230-233.
- Matthews-Cascon, H. & Martins, I.X. (1999). Notes on the reproduction of *Neritina virginea* (Linnaeus, 1758) in northeast Brazil (Mollusca: Gastropoda: Neritidae). *Arquivos de Ciências do Mar*, 32, 129-132.
- Moran A.L. (1997). Size, form, and function in the early life histories of the gastropod genera *Nucella* and *Littorina*. Ph.D. dissertation, University of Oregon, Eugene.
- Neumann, D. (1959). Morphologische und experimentelle untersuchungen über die variabilität der farbmuster auf der schale von *Theodoxus fluviatilis* L. *Zeitschrift Für Morphologie Und Ökologie Der Tiere*, 48(4), 349-411.

- Orton, R.A., Sibly, R.M. (1990). Egg size and growth rate in *Theodoxus fluviatilis* (L.). *Functional Ecology*, 4, 91-94.
- Özbek, M., Ustaoglu M.R., Balık, S., Sari, H. (2004). Batı Karadeniz Bölgesi'ndeki bazı göllerin Mollusca faunası. *Ulusal Malakoloji Kongresi*, İzmir, 163-170s.
- Pechenik, J.A. (1979). Role of encapsulation in invertebrate life histories. *American Naturalist*, 114, 859-870.
- Pechenik J.A. (1986). The encapsulation of eggs and embryos by molluscs: an overview. *American Malacological Bulletin*, 4(2), 165-172.
- Pechenik, J. (1999). On the advantages and disadvantages of larval stages in benthic marine invertebrate life cycles. *Marine Ecology Progress Series*. 177, 269-297.
- Peters, L., Traunspurger, W. (2012). Temporal patterns in macrograzer effects on epilithic algae and meiofauna: A comparative approach to test for single species and whole grazer community effects. *Aquatic Sciences*, 74(2), 229-240.
- Przeslawski, R. (2011). "Notes on the Egg Capsule and Variable Embryonic Development of *Nerita Melanotragus* (Gastropoda: Neritidae)." *Molluscan Research*, 31(3), 152-158.
- Råberg, S., Kautsky, L. (2007). Consumers affect prey biomass and diversity through resource partitioning. *Ecology*, 88, 2468-2473.
- Ramesh, M.R., Shankar, K.M., Mohan, C.V., Varghese, T.J. (1999). Comparison of three plant substrates for enhancing carp growth through bacterial biofilm. *Aquaculture Engineering*, 19, 119-131.
- Resh, V.H., Barnes, J.R., Benis-Steger, B., Craig, D.A. (1992). Life history features of some macroinvertebrates in a French Polynesian stream. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 27, 145-153.
- Rivest B.R. (1983). Development and the influence of nurse egg allotment on hatching size in *Searlesia dira* (Reeve, 1846) (Prosobranchia: Buccinidae). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 69, 217-241.
- Skoog, G. (1971). Variations in the distribution of *Theodoxus fluviatilis* on stony localities in the northern Baltic proper. *Thalassia Jugoslavica*, 7, 363-372.
- Skoog, G. (1976). Effects of Acclimatization and Physiological State on the Tolerance to High Temperatures and Reactions to Desiccation of *Theodoxus fluviatilis* and *Lymnea peregra*. *Oikos*, 27(1), 50-56.
- Symanowski, F., Hildebrandt, J. (2010). Differences in osmotolerance in freshwater and brackish water populations of *Theodoxus fluviatilis* (Gastropoda: Neritidae) are associated with differential protein expression. *Journal of Comparative Physiology*, 180(3), 337-346.
- Şahin, S.K., Yıldırım, M.Z. (2007). The Mollusk Fauna of Lake Sapanca (Turkey: Marmara) and Some Physico-Chemical Parameters of Their Abundance. *Turkish Journal of Zoology*, 31, 47-52.
- Tan, K.S., Lee, S.S.C. (2009). Neritid egg capsules: are they all that different? *Steenstrupia*, 30, 115-125.
- Underwood, A.J. (1975). Comparative studies on the biology of *Nerita atramentosa* Reeve, *Bembicium nanum* (Lamarck) and *Cellana tramoserica* (Sowerby) (Gastropods: Prosobranchia) in S.E. Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 18, 153-172.
- Underwood, A.J. (1981). Structure of a rocky intertidal community in new south wales: Patterns of vertical distribution and seasonal changes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 51(1), 57-85.
- Ustaoglu, M.R., Balık, S., Özbek, M. (2003). Yuvarlakçay'ın (Köyceğiz-Muğla) Mollusca Faunası. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 20(3-4), 433-438.
- Zettler, M., Frankowski, J., Bochert, R & Rohner, M. (2004). Morphological and ecological features of *Theodoxus fluviatilis* (Linnaeus, 1758) from Baltic brackish water and German freshwater populations. *Journal of Conchology*, 38 (3), 305-316.

A STUDY ON AWARENESS OF PEOPLE ABOUT JELLYFISH ALONG THE SOUTHWEST COASTS OF TURKEY

Nurçin Killi , Ozan Sağdıç , Sibel Cengiz 

Cite this article as:

Killi, N., Sağdıç, O., Cengiz, S. (2018). A Study on Awareness of People About Jellyfish Along The Southwest Coasts of Turkey. Journal of Aquaculture Engineering and Fisheries Research, 4(1), 55-63. DOI: 10.3153/JAEFR18006

Muğla Sıtkı Koçman University,
Faculty of Fisheries, Department of
Hydrobiology, Muğla-Turkey

Submitted: 03.05.2017

Accepted: 26.12.2017

Published online: 28.12.2017

Correspondence:

Nurçin KİLLİ

E-mail: ngulsahin@mu.edu.tr

**Journal of Aquaculture Engineering
and Fisheries Research**

E-ISSN 2149-0236

4(1), 55-63 (2018)

DOI: 10.3153/JAEFR18006

**ScientificWebJournals (SWJ)
©2015-2018**

ABSTRACT

This study is about a questionnaire developed to collect data related awareness of people about jellyfish and injury cases. The questionnaire was distributed to 226 people in the touristic areas of the west and the southwest regions of Turkey, with the participants consisting of holiday-makers, people working in the tourism sector, fishermen, divers as well as local dwellers. Overall, 78% of the participants had previous awareness of the existence of jellyfish, whereas the remaining 22% had heard about jellyfish for the first time only. The most known jellyfish species were *Aurelia aurita*, *Cotylorhiza tuberculata*, *Chrysaora hysoscella* and *Rhizostoma pulmo*. In total, 42% of the participants had run into jellyfish at least on one occasion before. The most common injuries were erythema, itching and blistering, and two people retained scars caused by *Pelagia noctiluca*. Of the participants that were injured by jellyfish, 91% did not seek hospitalisation or health care, 76% were unaware of the measures necessary following jellyfish injury, and 96% of those who spotted jellyfish whilst swimming or from the beach did not inform any academic institution or research organisation. Since jellyfish form swarms that are usually carried around randomly by currents, it is mandatory that people be informed about jellyfish blooms and possible related injuries. This is especially important since jellyfish injury cases are generally not being recorded from hospitals and health care providers throughout Turkey. The present questionnaire-based study has shown that even people affected by jellyfish injuries fail to notify relevant institutes or organisations. Further questionnaires and related projects should be implemented so as to collect data of jellyfish injuries and to increase people's awareness of jellyfish-related risks in other parts of Turkey.

Keywords: Questionnaire-based study, Local ecological knowledge, Medusae, Injury, Jellyfish bloom

Introduction

Jellyfish blooms are often observed around the world. Coastal aggregations of jellyfish have become a serious problem for the bathers on the coasts. Jellyfish stings threaten on human health by toxic and allergic reactions (Burnett, 2001; Fenner, 1998; Mariottini and Pane, 2010). In Australia, many people affected by stings of the Irukandji species every year even fatal cases are seen every 3-4 years (Gershwin et al., 2013). Mediterranean jellyfish species are not lethal but some species for example *Physalia physalis*, *Rhopilema nomadica*, *Carybdea marsupialis* and *Pelagia noctiluca* can cause serious problems on human (Mariottini and Pane, 2010). From these species only *R. nomadica* and *P. noctiluca* distribute in Turkey seas. *P. physalis* sting causes severe pain and urticarial on humans (Lin and Hessinger, 1979). Many injury cases by *P. physalis* were reported in French coasts in 2008, 2010 and 2011 (Labadie et al., 2012). *C. marsupialis* which was recorded from Aegean coasts of Turkey (Çınar et al., 2014) venom effects on human skin and causes severe pain, burning sensation, erythematous vesicular eruption and local oedema (Kokelj et al., 1992; Milla et al., 2000; Sanchez-Rodriguez et al., 2006). Also this species consumes zooplankton and ichthyoplankton and effects on fish populations directly and indirectly (Larson, 1976; Nogueira Jr and Haddad, 2008; Bordehore et al., 2011). According to Gordo et al. (2013) *P. noctiluca* has predation capacity on Atlantic Bluefin Tuna eggs. Also this species which can cause erythema, edema, itching, burning, vesicles and severe pain in the skin (Scarpa, 1984; 1987; Kokelj and Burnett, 1988; Carli et al., 1991; Carli et al., 1995) is the most dangerous native Mediterranean jellyfish (UNEP, 1984). *R. nomadica* which has injured holiday makers and clogged fishing nets as a result of its massive aggregations in the Levantine coasts of Turkey (Öztürk and İşinibilir, 2010) causes hospital cases with severe pain. Also, *Chrysaora hysoscella* is another dangerous jellyfish with long tentacles and isorhiza and eurytele nematocysts (Vaissiere, 1983; Gülşahin, 2016). *Rhizostoma pulmo* is moderately venomous species which is not caused hospital cases (Mariottini and Pane, 2010). Erythema, burning, sneezing, rhinorrhea, urticaria can occur by *R. pulmo* injuries. *Cotylorhiza tuberculata* is unharmed scyphozoan (Bernard, 1991). This species which its diameter can reach up to 40 cm, causes feeling fear and nuisance on the swimmers when it occurred huge swarms in coastal areas (Kikinger, 1992; Bernard, 1991). Jellyfish consume zooplankton, fish eggs and larvae are in competition with fish. Also, jellyfish negatively effect on fishery and aquaculture activities (Purcell et al. 2007). Bosch-Belmar et al. (2017) showed for the first time that jellyfish blooms effected negatively aquaculture facilities in Tunisia, Italy, Spain and Malta by

causing gill disorders and mortality of farmed fish and clogging net cages.

Marine ecosystems are affected by anthropogenic factors for example settlement success of polyps increase related by rising on marina, port and pier constructions (Purcell et al. 2007). Tourism is one of the important sectors of Turkey. Turkey which surrounded by the Mediterranean Sea, the Aegean Sea, the Marmara Sea and the Black Sea is an important location for the distribution of both native and alien jellyfish species. The scyphozoans which distribute in Turkey coasts are *Aurelia aurita*, *Rhizostoma pulmo*, *Cotylorhiza tuberculata*, *Phyllorhiza punctata*, *Rhopilema nomadica*, *Cassiopea andromeda*, *Pelagia noctiluca*, *Chrysaora hysoscella*, *Drymonema dalmatinum*, *Periphylla periphylla*, *Discomedusa lobata*, *Nausithoe punctata* and *Paraphyllina ransonii* (Çınar et al., 2014; İşinibilir et al., 2015; İşinibilir and Yılmaz, 2016). In Marmara Sea and Bosphorus Strait, *Aurelia aurita* blooms are seen commonly from spring to autumn (İşinibilir and Yılmaz, 2016; 2017). Also, *A. aurita* shows blooms in the north Aegean Sea, especially in Çanakkale, Gelibolu, Edremit Bay, and also, in İzmir Bay every year in late spring and early summer. This species forms swarms in Fethiye almost every year. These blooms can be seen even in the winter months (Gülşahin, 2017). Also, *C. tuberculata* occurs in large numbers in August, September and October in Gökova Bay, Muğla every year (Gülşahin and Tarkan, 2011, Gülşahin, 2017). This species showed high abundance in August and September in Güllük Bay (Öztürk et al. 2006). *R. pulmo* is commonly found in the western and the eastern Black Sea (İşinibilir and Yılmaz, 2017). Especially, in the eastern areas this species shows blooms in July and August every year (Gülşahin, 2017). *Cassiopea andromeda* which is a lessepsian species is successfully settled in Turkey. This species is seen with high abundances in the southern Aegean Sea (Özgür and Öztürk, 2008). Also, another lessepsian species *R. nomadica* was recorded in the southern Aegean Sea and the Mediterranean coasts of Turkey (Kıdeyş and Gücü, 1995; Öztürk and İşinibilir, 2010; Gülşahin and Tarkan, 2011). Especially, in the Antalya, İskenderun and Mersin Bays this species forms swarms in the summer months, so the fishermen complain about to blooms of this species (Sakınan, 2011; Turan et al. 2011). In July 2009, large amount of *R. nomadica* was caught by trawl in Mersin Bay. This species composed 60% of the total catch by all fishing gears in Antalya, Mersin and İskenderun Bays in March and April 2011. The fishermen were affected these swarms of *R. nomadica* economically (Turan et al., 2011).

This study was performed to collect data related awareness of people about jellyfish and injury cases. Since jellyfish form swarms that are usually carried around randomly by currents, it is mandatory that people be informed about jellyfish blooms and possible related injuries. This is especially important since jellyfish injury cases are generally not being recorded from hospitals and health care providers throughout Turkey. Also, this study is aimed to create awareness about the jellyfish blooms and their effects on humans on the citizen.

Materials and Methods

The questionnaire was performed on 226 persons including 141 male and 85 female. The participants were holiday makers, fishermen, divers, people working in the tourism sector and local dwellers in İzmir, Kuşadası, Akyaka, Bodrum, Marmaris and Fethiye in July and August 2015. These locations are popular touristic areas, as well as fishing areas in Turkey (Figure 1).

It was asked to the participants that whether or not knew the jellyfish. Also, it was asked to the participants who contacted with jellyfish to enumerate the pain levels between 1 (very mild) and 5 (very severe). Colored pictures of the scyphozoan species which distributed in Turkey coasts were

showed to the participants and were asked to show what they had seen before which of these species. Also, it was asked to the participants who knew the jellyfish that what should be done in jellyfish injury. The questionnaire form was showed in Figure 2.

Results and Discussion

Seventy eight percent of the participants declared they knew the jellyfish. Also, number of the participants have ever been in contact with a jellyfish was 74 (42%) among those who know the jellyfish. This ratio was high when it was thought of holiday makers for a limited time for vacation because of their job or income levels. These people who contact with a jellyfish described these organisms soft, transparent, jelly-like and colourless. Colours of the jellyfish they meet were purple, white, blue, brown and yellowish. Thirteen persons said they saw the jellyfish with bell size 15-20 and 20-25 cm. only two persons have met 1-5 cm bell sized jellyfish. Twelve persons have given information about the tentacle length (Figure 3). Most of the participants (62%) saw the whitish jellyfish which is thought to be *A. aurita*.

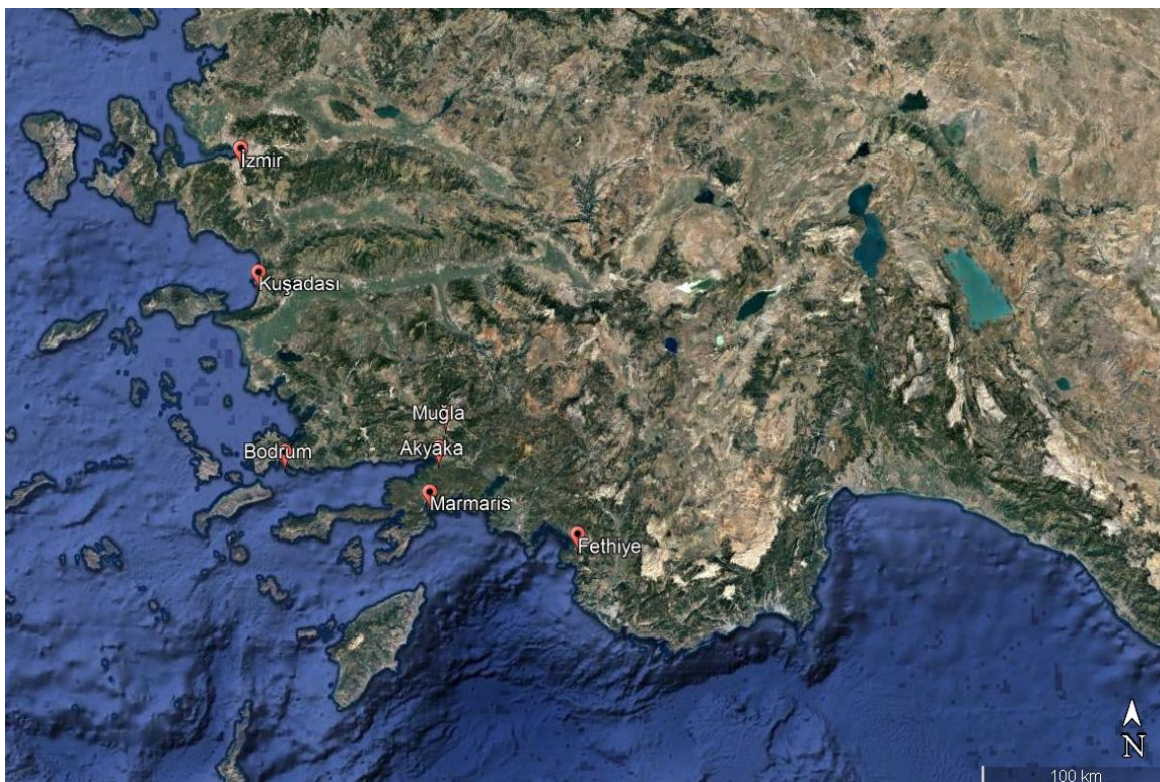


Figure 1. Study area

JELLYFISH AWARENESS QUESTIONNAIRE STUDY

1. Do you know the jellyfish?
YES NO
2. Have you ever been in contact with a jellyfish?
YES NO
3. Can you describe the distinctive characteristics of the jellyfish which you contact? (Colour, size, tentacle length, etc.)
4. Could you score the pain caused by the contact with a jellyfish?
 1 (very mild pain)
 2 (mild pain)
 3 (moderate pain)
 4 (severe pain)
 5 (very severe pain)
5. Which experiences did you the following cases with pain?
 Itching skin rash open sore erythema skin blisters
 Others (Please write)
6. Did you go to any hospital and health care provider when you contact with a jellyfish?
YES NO
7. Do you know what should be done in jellyfish injury?
YES NO
8. Do you have a scar caused by the jellyfish injury?
YES NO
9. Can you show the jellyfish which you seen commonly from the photographs?
10. Did you give information to the universities, research organisations, municipalities, coast guards, fishing cooperatives and other institutions?
YES NO If yes please write

Figure 2. The questionnaire form

It was wanted from the participants to show the jellyfish which they saw commonly from the photographs. *A. aurita* and *R. pulmo* were commonly seen by the participants. Also, *C. tuberculata* which form aggregations every summer in Gökova Bay was one of the most common species for the people who live in Muğla province. Other species which were seen by the several people were *C. hysoscella*, *R. nomadica*, *P. noctiluca* and *C. andromeda* (Figure 4). *C. andromeda* which is the first lessepsian scyphozoan species reported from the Mediterranean, lives upside-down on the sandy and muddy bottom of the sea floor (Galil et al., 1990). Therefore, this species was only observed by fishermen and divers.

Five persons declared they had no pain. Other participants determined their pain rates as shown in Figure 3. Only five persons had very severe pain because of the jellyfish injuries. Most of the participants described very mild, mild and moderate rates of pain as expected (Figure 4). In the Mediterranean Sea, jellyfish species are not as dangerous as in tropical waters (Bordehore et al., 2015; Mariottini and Pane, 2010; Mariottini et al., 2008). Therefore, jellyfish species are distributed in Turkey coasts do not lead to the hospitalization events. But, injury cases are also related to the allergic responses of the patients (Mariottini and Pane, 2010).

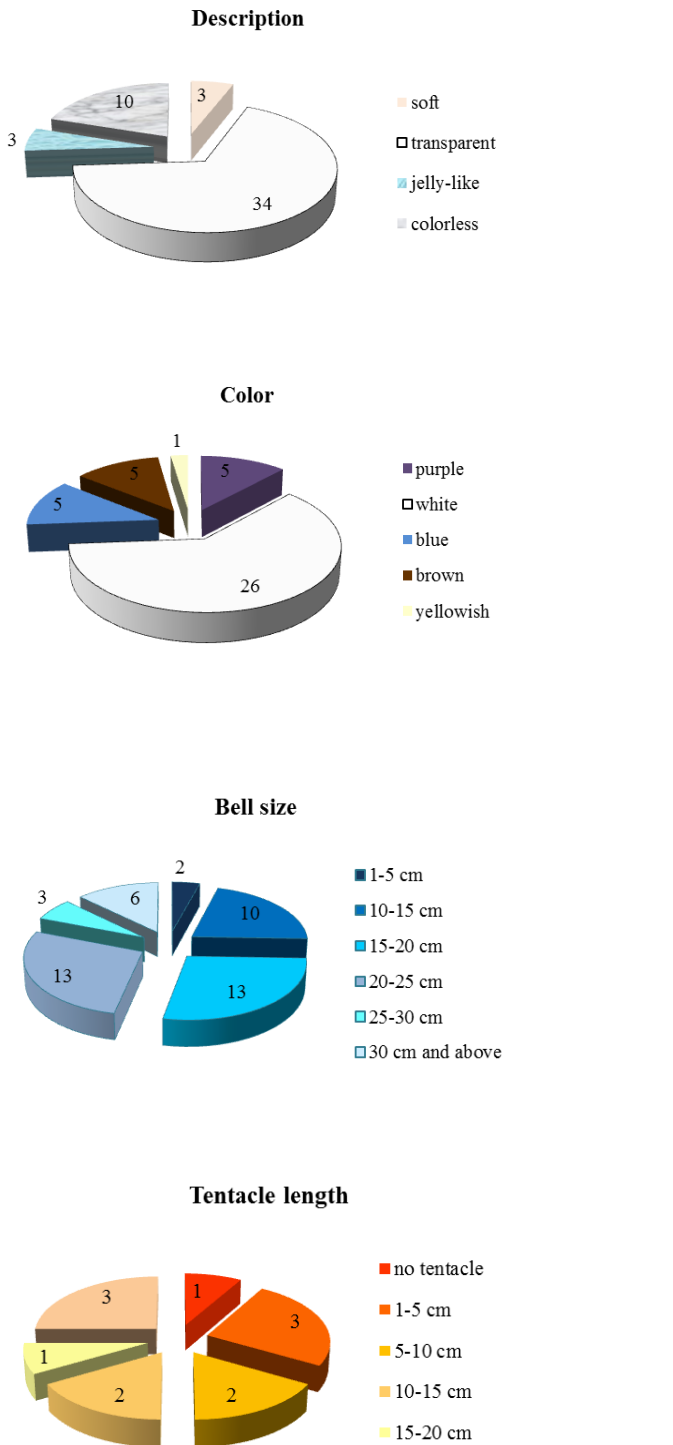


Figure 3. Numbers of the participants who declared description, color, bell size and tentacle length of the jellyfish.

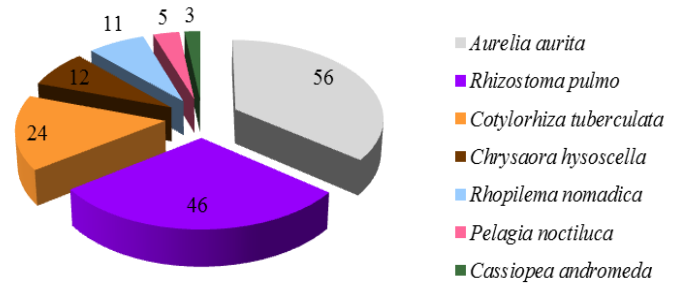


Figure 4. Common jellyfish species which were seen by the participants

Most people said they were injured by jellyfish from their legs. Localities where jellyfish injuries are most common were Bodrum (18 persons), Fethiye (15 persons) and Marmaris (15 persons). Also, thirteen persons in İzmir, eight persons in Akyaka and five persons in Kuşadası have stung by jellyfish previously.

Common effects of the jellyfish injuries were itching and erythema, according to the participants. Also, skin blisters were seen at ten persons who injured by jellyfish. Skin rash was very rare and no effect was seen on three persons (Figure 5). Only seven participants were gone to the hospital or health care provider after the injury but sixty seven persons did not need any medical treatment. The groups are the most exposed to jellyfish injuries are fishermen and swimmers.

Seventy six percent of the participants declared that they did not know what should be done about jellyfish injuries. Other participants knew that they should use vinegar or ammonia. According to Cegalon et al. (2013) ammonia inactivate the nematocysts of scyphomedusae but in cubomedusae it must be use vinegar to counteract nematocysts. Only two persons who are fisherman and divers had scars due to the jellyfish injury. They showed picture of the *Pelagia noctiluca* as the reason of their scars.

96 percent of the participants which encountered before jellyfish bloom or injured by jellyfish did not give an information to the universities, research organizations, municipalities, coast guards, fishing cooperatives and other institutions. Only seven persons have informed to the university and municipality in Muğla coasts. This results showed that most of the people do not cooperate with universities and

institutes in scientific matters. Especially tourism employees avoid to inform jellyfish blooms or injury cases because they are afraid of a decrease in the number of tourists. They do not have any knowledge about scientific importance and their effects on humans. Therefore, causes of blooms, effects on humans and scientific importance of jellyfish should be explained in coastal municipalities, touristic areas and diving centers. Also, trainings and seminars about what should be done in jellyfish injuries should be given.

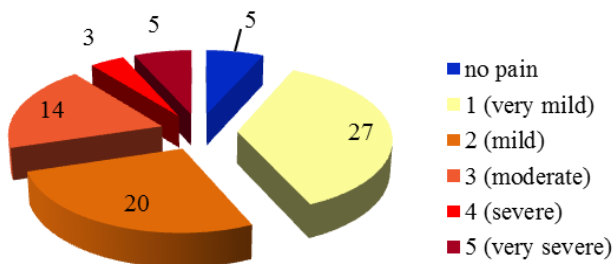


Figure 5. Pain levels of the participants who contacted with jellyfish.

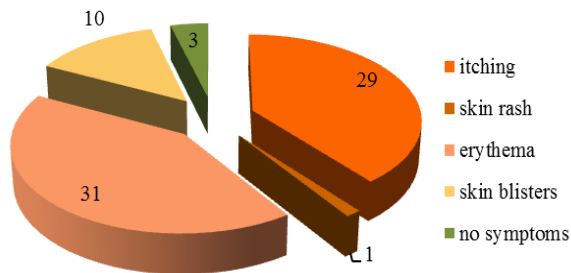


Figure 6. Symptoms on the participants caused by jellyfish



Figure 7. Scar of *Pelagia noctiluca* injury (Photograph by Enis Karazincir)

Conclusion

The Aegean and the Mediterranean coasts of Turkey are important tourism areas. Increasing tourism constructions may cause rising jellyfish blooms in these areas (Purcell et al., 2007; Richardson et al., 2009; Duarte et al., 2013). Therefore, it is inevitable that the tourism sector in collaboration with universities and institutes. The persons working in tourism sector must be conscious about need to do in jellyfish injuries.

Nevertheless, scientific point of view of people has not developed in Turkey. In the past, it was contacted with many hotels about informing jellyfish blooms in all the Muğla coasts but did not get any feedback. For this reason, this study is important to create awareness about scientific researches on people. With this study, forty nine persons of the participants who do not know the jellyfish were informed about these organisms. It was told to all of the par-

participants what need to do in jellyfish injuries. And also, importance of the scientific collaborations with universities and research institutes was explained to the people.

Knowledge exchange between people and scientist can solve the problems of each side. To this end, the National Jellyfish and Gelatinous Organisms Watch Programme (<http://www.yayakarsa.org/index.php/en/>) was started in 2014 in conjunction with the CIESM Jellywatch Programme.

Jellyfish blooms cause nuisance on people even is not dangerous. Most of the participants defined the jellyfish as disgusting, irritating, burning and sticky. Jellyfish stings injure the bathers with pain and other influences such as itching, erythema, oedema, blisters etc. Sometimes people who injured by jellyfish need medical treatment. But, jellyfish injury cases are generally not being recorded from hospitals and health care providers throughout Turkey. Also, there are not lifeguards and medical centres in all the beaches in our coasts. Therefore, the actual number of jellyfish injuries is unknown. For this reason, further projects and questionnaires should be performed to collect data about jellyfish injuries. Additionally, trainings should be given in schools, tourism enterprises and diving schools to create awareness to inform jellyfish blooms and injuries.

References

- Bernard, P. (1991). Recapitulation des résultats de la surveillance des proliférations de méduses sur les côtes méditerranéennes françaises durant l'été 1987. UNEP: Jellyfish blooms in the Mediterranean Proceedings of the II Workshop on Jellyfish in the Mediterranean Sea *MAP Tech. Rep. Ser.*, No 47; UNEP: Athens, Greece, 1991; pp. 51-57.
- Bordehore, C., Fuentes, V.L., Atienza, D., Barberá, C., Fernandez-Jover, D., Roig, M., Acaveda-Dodley, M.J., Canepa, A.J., Gili, J.M. (2011). Detection of an unusual presence of the cubozoan *Carybdea marsupialis* at shallow beaches located near Denia, Spain (south-western Mediterranean). *Marine Biodiversity Records*, 4.
- Bordehore, C., Fuentes, V.L., Segarra, J.G., Acevedo, M., Canepa, A., Raventós, J. (2015). Use of an Inverse Method for Time Series to Estimate the Dynamics of and Management Strategies for the Box Jellyfish *Carybdea marsupialis*. *PLoS ONE*, 10(9), e0137272.
- Bosch-Belmar, M., Azzurro, E., Pulis, K., Milisenda, G., Fuentes, V., Yahia, O. K. D., Micallef, A., Deidun, A., Piraino, S. (2017). Jellyfish blooms perception in Mediterranean finfish aquaculture. *Marine Policy*, 76, 1-7.
- Burnett J.W. (2001) Medical aspects of jellyfish envenomation: pathogenesis, case reporting and therapy. *Hydrobiologia* 451, 1-9.
- Carli, A., Cotta, S., Mariottini, G.L., Pane, L. (1991). Considerazioni sulla proliferazione di Cnidari planctonici nel Mar Ligure. *Meditravel* 1991, 0, 112-120.
- Carli, A., Mariottini, G.L., Pane, L. (1995). Ecological and medical aspects of jellyfish poisoning. In Epidemiological studies related to the environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms *MAP Tech. Rep. Ser.* 1995, No 93; UNEP: Athens, Greece, 1995; pp. 1-21.
- Çınar, M.E., Yokeş, M.B., Açık, Ş., Bakır, A.K., (2014). Check-List of Cnidaria and Ctenophora from the Coasts of Turkey. *Turkish Journal of Zoology* 38, 677-697.
- Duarte, C.M., Pitt, K.A., Lucas, C.H., Purcell, J.E., Uye, S.-i., Robinson, K., Brotz, L., Decker, M.B., Sutherland, K.R., Malej, A., Madin, L., Mianzan, H., Gili, J.-M., Fuentes, V., Atienza, D., Pagés, F., Breitburg, D., Malek, J., Graham, W.M., Condon, R.H. (2013). Is global ocean sprawl a cause of jellyfish blooms?. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11, 91-97.
- Fenner, P.J. (1998). Dangers in the ocean: the traveler and marine envenomation. I. Jellyfish. *Journal of Travel Medicine*, 5(3), 135.
- Galil, B.S., Spanier, E., Ferguson, W.W. (1990). The Scyphomedusae of the Mediterranean Coast of Israel, Including two Lessepsian Migrants new to the Mediterranean. *Zoologische Mededelingen Leiden*, 64(7), 95-105.
- Gershwin, L.A. (2013). *Stung!: On jellyfish blooms and the future of the ocean*. University of Chicago Press, ISBN 13: 978-0-226-02024-2
- Gordoa, A., Acuña, J.L., Farrés, R., Bacher, K. (2013). Burst feeding of *Pelagia noctiluca* ephyrae on Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) eggs. *PLoS ONE*, 8(9), e74721.

- Gülşahin, N., Tarkan, A. N. (2011). The first confirmed record of the alien jellyfish *Rhopilema nomadica* Galil, 1990 from the southern Aegean coast of Turkey. *Aquatic Invasions*, 6(Suppl 1), S95-S97.
- Gülşahin, N. (2016). Nematocyst types of *Chrysaora hysoscella* (Linnaeus, 1766) from Turkey. 5th International Jellyfish Bloom Symposium, May 30- June 3, 2016, Barcelona, Spain, p.166.
- Gülşahin, N. (2017). Jellyfish Blooms and Injuries in Turkey. In Gian Luigi Mariottini, Ed. *Jellyfish: Ecology, Distribution Patterns and Human Interactions* (p.149-162). Nova Science Publishers, ISBN 978-163-485-68-81
- Isinibilir, M., Yılmaz, I., Demirel, N., (2015). New records of jellyfish species in the Marmara Sea. *Italian Journal of Zoology*, 82, 425-429.
- Isinibilir, M., Yılmaz, N.İ. (2016). Jellyfish Species in the Sea of Marmara, in: Özsu, E., Çağatay, M.N., Balkis, N., Balkis, N., Öztürk, B. (Eds.), *The Sea of Marmara; Marine Biodiversity, Fisheries, Conservation and Governance*. Turkish Marine Research Foundation, İstanbul. ISBN 978-975-8825-34-9
- Isinibilir, M., Yılmaz, İ.N., (2017). Jellyfish dynamics and their socioeconomic and ecological consequences in Turkish Seas, in: G.L., M. (Ed.), *Jellyfish: Ecology, Distribution Patterns and Human Interactions*. Nova Publishers, New York, pp. 51-70. ISBN 978-163-485-68-81
- Kideys, A.E., Gücü, A.C. (1995). *Rhopilema nomadica*: a Lessepsian scyphomedusan new to the Mediterranean coast of Turkey. *Israel Journal of zoology*, 41(4), 615-617.
- Kikinger, R. (1992). *Cotylorhiza tuberculata* (Cnidaria: Scyphozoa)—Life history of a stationary population. *PSZNI Mar. Ecol.* 1992, 13, 333-362.
- Kokelj, F., Burnett, J.W. (1988). Reazioni inusuali indotte dal contatto con la medusa *Pelagia noctiluca*. *Giornale Italiano di Dermatologia e Venereologia*, 123, 501-503.
- Kokelj F., Del Negro P., Montanari G. (1992) Jellyfish dermatitis due to *Carybdea marsupialis*. *Contact Dermatitis*, 27, 195.
- Labadie, M., Aldabe, B., Ong, N., Joncquiert-Latarjet, A., Groult, V., Poulard, A., Coudreuse, M., Cordier, L., Rolland, P., Chanseau, P., de Haro, L. (2012). Portuguese man-of-war (*Physalia physalis*) envenomation on the Aquitaine Coast of France: An emerging health risk. *Clinical toxicology*, 50(7), 567-570.
- Larson R.J. (1976). Cubomedusae: feeding–functional morphology, behaviour and phylogenetic position. In Mackie G.O. (ed.) *Coelenterate ecology and behavior*. New York: Plenum Publishing Co., pp. 237-245. ISBN 978-1-4757-9724-4_25
- Lin, D.C., Hessinger, D.A. (1979). Possible involvement of red cell membrane proteins in the haemolytic action of Portuguese Man-of-War toxin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 91(3), 761-769.
- Mariottini, G.L., Giacco, E., Pane, L. (2008). The Mauve Stinger *Pelagia noctiluca* (Forsskal, 1775). Distribution, Ecology, Toxicity and Epidemiology of Stings. A Review. *Marine Drugs*, 6(3), 496-513.
- Mariottini, G.L., Pane, L. (2010). Mediterranean jellyfish venoms: A review on scyphomedusae. *Marine Drugs*, 8(4), 1122-1152.
- Milla L., Segura-Puertas L., Celis L. (2000). Dermatitis por contacto con *Carybdea marsupialis* (Cnidaria Cubozoa). *Dermatologi'a Revista Mexicana* 44, 167-170.
- Nogueira Jr M., Haddad M.A. (2008). The diet of Cubomedusae (Cnidaria, Cubozoa) in southern Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 56, 157-164.
- Özgür, E., Öztürk, B. (2008). A population of the alien jellyfish, *Cassiopea andromeda* (Forsskal, 1775) [Cnidaria: Scyphozoa: Rhizostomea] in the Ölüdeniz Lagoon, Turkey. *Aquatic Invasions*, 3(4), 423-428.
- Öztürk, B., Ünsal, N., Şener, E., Altuğ, G., Aktan, Y., Güven, E., Topaloğlu, B., Keskin, Ç., İsinibilir, M., Çardak, M., Eryalçın, K.M., Çiftçi, P.S. (2006). Muğla İlinde Su Ürünleri Yetiştiriciliği Açısından Hassas Alanlar ile Yeni Yetiştiricilik Alanlarının Belirlenerek Kirlenme Parametrelerinin İzlenmesi Projesi, İstanbul Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, 1. Rapor, 2006.

- Öztürk, B., İşinibilir, M. (2010). An alien jellyfish *Rhopilema nomadica* and its impacts to the Eastern Mediterranean part of Turkey. *Journal of Black Sea/Mediterranean Environment*, 16(2), 149-156.
- Purcell, J.E., Uye, S.I., Lo, W.T. (2007). Anthropogenic causes of jellyfish blooms and their direct consequences for humans: a review. *Marine Ecology Progress Series*, 350, 153-174.
- Richardson, A.J., Bakun, A., Hays, G.C., Gibbons, M.J. (2009). The jellyfish joyride: causes, consequences and management responses to a more gelatinous future. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(6), 312-322.
- Sakınan, S. (2011). Recent Occurrence of Indopacific Jellyfish *Rhopilema nomadica* in North-Eastern Levantine Sea. *First International Workshop on Jellyfish and Other Gelatinous Species in Turkish Marine Waters*, 20-21 May 2011, Bodrum, Muğla, Turkey, p. 58-65.
- Sánchez-Rodríguez J., Torrens E., Segura-Puertas L. (2006). Partial purification and characterization of a novel neurotoxin and three cytolytic toxins from box jellyfish (*Carybdea marsupialis*) nematocyst venom. *Archives of Toxicology*, 80, 163-168.
- Scarpa, C. (1984). On skin injuries provoked by Coelenterata and Echinodermata. *UNEP: Workshop on Jellyfish Blooms in the Mediterranean*, Athens, Greece, 31 October–4 November 1983; UNEP: Athens, Greece, 1984; pp. 95–97.
- Turan, C., Özbalcılar B., Ergüden, D., Uygur, N. (2011). Occurrence and Abundance of Lessepsian Jellyfish *Cassiopea Andromeda* (Forsskal, 1775) in Iskenderun Bay, the Northeastern Mediterranean Sea. *First International Workshop on Jellyfish and Other Gelatinous Species in Turkish Marine Waters*, 20-21 May 2011, Bodrum, Muğla, Turkey, p. 73-77.
- UNEP (1984). *Workshop on Jellyfish Blooms in the Mediterranean*, Athens, Greece, 31 October – 4 November 1983; UNEP: Athens, Greece, 1984.
- Vaissiere, R. (1983). Sur quelques travaux relatifs aux méduses acalèphes de Méditerranée. *Workshop on Jellyfish Blooms in the Mediterranean*, Athens, Greece, 31 October – 4 November 1983; UNEP: Athens, Greece; pp. 149-161.
- <http://www.yayakarsa.org/index.php/en/> (accessed 10.04.17)